京都大学	博士（医学）	氏　名	HAMED MOHAMED SHERIF HAMED MOHAMED ELGENDY
論文題目	Augmented damage of islets by impaired exocrine acinar cells undergoing apoptosis that is possibly converted to necrosis during isolation. （膵島分離過程において傷害された膵外分泌細胞はおそらくアポトーシスからネクローシスを生じて膵島傷害を増強する）		

（論文内容の要旨）

Ⅰ型糖尿病の有力な治療法である膵島移植では、摘出後に冷保存された膵臓から移植に適した膵島を効率よく分離する必要がある。現在用いられている膵島分離法は37℃における collagenase 処理と機械的分離操作からなるが、その過程において生じる膵島傷害の機序には不明の点が多い。膵外分泌細胞から放出される酵素が膵島傷害を引き起こす可能性があるが、実際に膵島分離過程における膵島傷害に外分泌細胞が関与するかどうかは明らかにされていない。本研究では、冷保存された摘出膵臓からの膵島分離過程における外分泌細胞傷害と分離膵島の生存率および機能の関係について解析し、膵島分離操作中の温度が膵島と外分泌細胞の生存率に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

摘出したマウス膵臓を冷却した University of Wisconsin 保存液中に 0 時間、24 時間、48 時間保存した後に 37℃、15 分間の collagenase 処理による膵島分離を行ったところ、保存時間に従って、分離膵島数が減少し、膵島細胞のネクローシスが増加した。また、分離された膵島を糖尿病マウスに移植したところ、膵島分離前の冷保存時間が長いほど糖尿病改善効果が減弱した。次に冷保存後の膵臓における膵島細胞と外分泌細胞のネクローシスを YOYO-1 染色、アポトーシスを TUNEL 染色により評価した。冷保存直後に評価した場合、外分泌細胞のネクローシスは保存時間によらず 10%未満であったが、アポトーシスは保存時間とともに増加した。冷保存後に collagenase 非存在下で 37℃、15 分間保温してから評価した場合、外分泌細胞のネクローシスは保存時間と共に増加し、ネクローシス細胞の 60%以上にはアポトーシスの所見も観察されたが、膵島細胞にはネクローシスあるいはアポトーシスはほとんど認められなかった。さらに、冷保存直後および冷保存後に 37℃で 15 分間保温した場合には抽出液中のトリプシン活性上昇は認められないが、冷保存後に 37℃で 15 分間 collagenase 処理を行った場合にはトリプシン活性が有意に上昇することが明らかになった。

本研究の結果は、外分泌細胞のネクローシスは主に膵の冷保存中に生じたアポトーシスから惹起されること、膵島分離過程における 37℃保温が外分泌細胞のアポトーシスとネクローシスを促進すること、ネクローシスに陥った外分泌細胞が 37℃における collagenase 処理を含む膵島分離過程において膵島傷害を惹起することを示唆している。

（論文審査の結果の要旨）

Ⅰ型糖尿病の有力な治療法である膵島移植では、冷保存された摘出膵臓から膵島を効率よく分離する必要がある。膵臓保存と膵島分離において外分泌細胞傷害に起因する膵島傷害が生じると考えられるが、詳細は不明である。本研究は、膵島分離過程における外分泌細胞傷害が分離膵島の生存率と機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的としている。

冷保存された摘出マウス膵臓から膵島分離を行うと、保存時間に依存して膵島細胞のネクローシスが増加し、分離膵島数が減少した。冷保存された膵臓では、膵島細胞、外分泌細胞ともネクローシスは増加しないが、外分泌細胞のアポトーシスは保存時間に依存して増加した。摘出膵臓を冷保存後に collagenase 非存在下で 37℃、15 分間保温した場合、保存時間に依存して外分泌細胞のネクローシスが増加し、ネクローシス細胞の 60%ではアポトーシスの所見を伴っていたが、膵島細胞のアポトーシスとネクローシスは増加しなかった。また、上清中のトリプシン活性上昇は認められなかった。一方、冷保存後に collagenase 存在下で 37℃、15 分間保温した場合には、上清中のトリプシン活性が有意に上昇した。以上の結果は、冷保存された摘出膵臓における外分泌細胞のネクローシスは主にアポトーシスから生じること、ネクローシスに陥った外分泌細胞が膵島分離過程においてトリプシンを放出して膵島細胞傷害を惹起することを示唆している。

以上の研究は膵島分離法の改良に貢献し、Ⅰ型糖尿病治療法としての膵島移植の確立に寄与しうると考えられる。

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、平成２３年５月３０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。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降