

岡本 辰哉 論文内容の要旨

主 論 文

Effect of Zinc on early graft failure following intraportal islet transplantation in rat recipients

ラット経門脈的膵島移植時における亜鉛投与による
レシピエント早期グラフト不全への影響

岡本 辰哉、黒木 保、足立 智彦、大野 慎一郎、林 徳真吉、田島 義証
江口 晋、兼松 隆之

Annals of Transplantation; in press

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(教室主任代理：中尾一彦教授)

【緒 言】

コントロール不良の1型糖尿病に対する根本的治療として、膵島移植はその侵襲性の低さから膵臓移植に代わる治療として注目されている。2000年に提唱されたEdmontonプロトコルにより移植成績の改善は得られたものの、未だ解決すべき課題は多い。その一つに instant blood mediated reaction (以下 IBMIR) を始めとした早期移植グラフト不全が挙げられ、移植膵島の半数以上が早期に機能不全に陥るとされている。一方、亜鉛は生体内において重要な微量元素であることが知られている。特に、亜鉛はインスリンの生成・貯蔵・分泌には不可欠であり、更にはインスリン分泌を司る膵β細胞には豊富な亜鉛が貯蔵するとされ、多くの研究で亜鉛欠乏と糖尿病の関係が示唆されている。また、亜鉛は生体内でラジカルスカベンジャーの役割を果たすとともに、カスパーゼ3抑制を介した抗アポトーシス作用も有することから、細胞保護効果を発揮することが期待できる。今回、膵島移植レシピエントに十分量の亜鉛を投与すれば、その細胞保護効果によりその移植成績は向上するのではないかと仮定し、ラットを用いた実験系を確立し検討した。

【対象と方法】

・実験動物；

ドナー（提供側）には8～9週齢Wisterラット（雄）、体重300～350gを使用した。
レシピエント（受容側）には5週齢Wisterラット（雄）を使用した。

：移植2週間前より通常飼料（Control群 n=30；Zn濃度50ppm）、高亜鉛食（High Zn群 n=31；Zn濃度1000ppm）を摂取させた。移植に先立ち移植5日前にストレプトゾトシン60mg/kgを陰茎静脈より投与し、糖尿病ラットを作成した。

移植後も各群ともに術前と同様の飼料を摂取させた。

- ・膵臓消化および膵島単離・純化；
膵臓は膵管内コラゲナーゼ法で消化した。
イオジキサノールを用いた非連続濃度勾配法で膵島を単離・純化した。
- ・移植方法；
全身麻酔下にレシピエントを開腹し経門脈的に膵島を肝臓内に注入した。
移植は1レシピエントに対し1ドナーを使用した。
- ・評価；
 - (1) 移植前および移植3,7,14日目に簡易血糖測定器を用いて血糖値を測定。
 - (2) 移植14日目に犠牲死させ下大静脈より採血し、血清亜鉛濃度を測定。
 - (3) 移植後、血糖値が300mg/dl以上を示すものをグラフト不全と定義し、グラフト不全の発生率を検討。
 - (4) グラフトである肝臓はヘマトキシリン・エオジン染色、インスリン免疫染色を行い病理組織学的に検討。
 - (5) Mann-Whitney U-testを用いて行い統計学的に解析。
P値が0.05未満を有意差ありと判断。

【結 果】

- (1) 血糖値；
High Zn 群は Control 群に比して良好な血糖コントロールを示した。
移植3日目、14日目において両群間に有意差が見られた（移植3日目 237.1±120.6 mg/dl vs. 164.2±69.1 mg/dl；移植14日目 273.7±160.9 mg/dl vs. 179.2±114.3 mg/dl）。
- (2) 血清亜鉛濃度；
Control 群は 91.7±15.4 ug/dl、High Zn 群は 107.0±12.7 ug/dl と両群間に有意差が見られた。
- (3) グラフト不全発生率；
移植3日目において High Zn 群は Control 群に比して有意に早期グラフト不全の発生を抑制した（6.7% vs. 33.3%）。
- (4) 病理組織学的検討；
肉眼的に Granulated islets と De-granulated islets に分類した。
High Zn 群は Control 群に比して有意に Granulated islets を多く認め、移植膵島は良好な形態を維持していた（65.1% vs. 41.8%）

【考 察】

膵島移植の成績を低下させる原因の一つに、移植早期に生じるグラフト不全が挙げられる。早期グラフト不全は NF κ B、Tissue factor、MCP-1、NO などの炎症性メディエーター惹起により生じると考えられている。亜鉛は生体内で 100 種類以上の酵素活性に関与しているとともに抗炎症作用、抗酸化作用を有することも広く知られている。本実験の結果により、レシピエントを亜鉛豊富な環境に置くことで早期グラフト不全抑制および良好な血糖コントロールが得られることが推測された。また、亜鉛豊富な状況下では、移植された膵島は良好な形態を保つことも認められ、膵島移植において亜鉛投与により移植膵島の形態異常及び破壊が抑制されていることを示唆される。亜鉛は人体にとって無害であり、臨床的に膵島移植レシピエント候補に亜鉛補充を行うことは膵島保護の側面より有用であり、膵島移植成績の向上に寄与できることが期待される。