

Title	Survival of Allografted Pancreatic Islets in the Subretinal Space in Rats.
Sub Title	ラット膵臓ランゲルハンス島細胞の同種網膜下移植
Author	井上, 真
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.3 (2003. 9) ,p.13-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030902-0013

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Survival of Allografted Pancreatic Islets in the Subretinal Space in Rats.

(ラット膵臓ランゲルハンス島細胞の同種網膜下移植)

井 上 真

内容の要旨

【目的】本研究の目的は網膜下腔が膵臓ランゲルハンス島細胞（以下、ラ氏島細胞）移植に対して免疫特権部位であるかを検討することである。

【方法】Sprague Dawley (SD) ラットをドナーおよびレシビエントとして用いた。総胆管からカニューレを挿入し、膵臓にコラゲナーゼを注入した。小腸から分離した後、温水浴槽（38度、40分間）に留置した。消化産物を400 μ mのステンレスメッシュに通し、実体顕微鏡下で遊離した白色のラ氏島細胞を収集した。50 μ lのHamiltonシリンジに約200個のラ氏島細胞を充填させ、ポリアミドチューブを通して強膜フラップから網膜下にラ氏島細胞を注入した。対比実験として同等の細胞を結膜下に移植した。移植術後2日から60日に眼球を摘出し、パラフィンに包埋した後にインスリン、グルカゴン、サイトケラチン、ビメンチン、CD8の免疫染色を用いて検討した。

【結果】囊胞状の網膜剥離がラ氏島細胞注入直後に認められた。一週間後からは網膜下に白色の混濁した細胞塊が検眼鏡的に随時観察され、炎症所見はなかった。組織学的検討では網膜下移植片にインスリンとグルカゴン染色陽性の内分泌細胞が移植後60日まで確認された。移植後2日後では、移植されたラ氏島細胞は軽度で傷害された網膜色素上皮細胞と神経網膜外層の間に位置していた。移植片を覆う網膜外層と移植片下の網膜色素上皮は移植7日後には境界明瞭ではなく、線維血管組織が内分泌細胞を取り囲み始めていた。線維血管組織の中の管腔細胞と残存した網膜色素上皮はサントケラチン陽性であった。線維芽細胞様細胞と網膜内のグリア細胞がビメンチンで染色された。内分泌細胞を取り囲んだ線維芽細胞様細胞は移植後7日以降のすべての移植片で観察され、経時的に密度が濃くなった。移植片内には血管新生が、移植後30日、60日に観察され、脈絡膜循環からの血液供給を示していた。CD8陽性リンパ球の浸潤は網膜下移植片、網膜、脈絡膜にはほとんど見られず、数個のCD8陽性細胞が脈絡膜内か近傍に時々認められ血液循環の中のものと考えられた。網膜下の移植片は移植後30日の中の6眼中3眼と60日後の4眼中1眼で認められなかった。移植片は線維血管組織に置換され、それぞれ1眼ずつにCD8陽性リンパ球の浸潤を認めた。対比実験として免疫特権部位ではない結膜下に同様の移植片を移植した。結膜下移植片は白色の混濁した細胞塊として結膜下に7日後、14日後はみられたが、21日後には消失した。7日後にはCD8陽性リンパ球が結膜、テノン嚢内に広範にみられた。内分泌細胞は分離し、14日後まではインスリン染色陽性であったが、単核の細胞が多数周囲に浸潤していた。浸潤した単核の細胞はほとんどCD8陽性細胞であった。

【結論】網膜下腔は膵臓ラ氏島細胞移植においてリンパ球浸潤を抑制する免疫特権部位であると示唆された。

論文審査の要旨

糖尿病の治療の1つとして膵臓ランゲルハンス島細胞（以下、ラ氏島細胞）を免疫特権部位に移植する試みが行われてきた。本研究は網膜下腔がラ氏島細胞の移植に対して免疫特権部位であるかを検討したものである。実験にはSprague Dawley (SD) ラットをドナーおよびレシビエントとして用いた。収集したラ氏島細胞を強膜フラップから網膜下に注入し、対比実験として同等の細胞を結膜下に移植した。移植術後2日から60日に眼球を摘出し、パラフィンに包埋した後にインスリン、グルカゴン、サイトケラチン、ビメンチン、CD8の免疫染色を用いて検討した。移植一週後から網膜下に白色の混濁した細胞塊が検眼鏡的に随時観察された。組織学的には網膜下移植片にインスリンとグルカゴン染色陽性の内分泌細胞が移植後60日まで確認された。内分泌細胞を取り囲んだ線維芽細胞様細胞は移植後7日以降のすべての移植片で観察され、経時的に密度が濃くなった。CD8陽性リンパ球の浸潤は網膜下移植片、網膜、脈絡膜にはほとんど見られず、数個のCD8陽性細胞が脈絡膜内か近傍に時々認められ血液循環の中のものと考えられた。網膜下の移植片は移植後30日の中の6眼中3眼と60日後の4眼中1眼で認められなかった。移植片は線維血管組織に置換され、それぞれ1眼ずつにCD8陽性リンパ球の浸潤を認めた。一方、結膜下の移植片は白色の混濁した細胞塊として結膜下に7日後、14日後はみられたが、21日後には消失した。以上網膜下腔は膵臓ラ氏島細胞移植においてリンパ球浸潤を抑制する免疫特権部位であることが示唆された。

審査に当たり使用したSDラットの妥当性につき問題点が指摘された。また実際に糖尿病モデルを使用した実験が行われたかとの質問があった。これに対しストレプトゾトシン誘導糖尿病ラットの網膜下腔にラ氏細胞を移植したが血糖の正常化は得られなかったとの回答がなされた。また遺伝的に操作したマウスを使用した方が良かったのではないかと提案がなされた。網膜下に移植された細胞は増殖が見られたかとの質問に、経時的には網膜下移植片の大きさには変化が見られなかったとの回答があった。また増殖細胞を検出するためにはBrdUを用いる必要があること、移植片を取り囲む線維芽細胞様細胞がビメンチンでグリア細胞由来としているがGFAPを用いるべきとの指摘があった。最後に本研究がどのように臨床応用に生かされるのかとの質問に、最初は網膜周辺部にラ氏島細胞の移植を考えていたが、最近の研究で網膜下腔に最初に移植しても同等に他の場所に免疫寛容を導入できない可能性が出てきたので、体の他の場所で網膜下腔に誘導できた免疫寛容を再現させる方法を考えていたとの回答があった。本研究は網膜下腔がラ氏島細胞移植に対して免疫特権部位であることを検討した論文であり、実験方法、臨床応用について課題は残されるが、今後の研究次第で発展性が期待される論文と評価された。

論文審査担当者 主査 眼科学 小口 芳久
内科学 猿田 享男 病理学 岡田 保典
微生物学 小安 重夫 生理学 岡野 栄之
学力確認担当者：北島 政樹、猿田 享男
審査委員長：猿田 享男

試問日：平成15年6月3日