



Title	Demonstration of Two Different Processes of β -Cell Regeneration in a New Diabetic Mouse Model Induced by Selective Perfusion of Alloxan
Author(s)	和栗, 雅子
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40988
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	和 栗 雅 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 4 7 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 12 月 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Demonstration of Two Different Processes of β -Cell Regeneration in a New Diabetic Mouse Model Induced by Selective Perfusion of Alloxan (膵 β 細胞の再生過程における, 2つの異なった再生機構の存在の証明—アロキサン膵部分灌流による新しい糖尿病マウスモデルにおける分析—)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 堀 正二 教 授 荻原 俊男

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 膵 β 細胞はほとんど再生する能力を持たないと考えられているが, 膵90%摘除動物で残存膵島の肥大が起ることや, 糖尿病ケトアシドーシスで死亡した患者の膵においても, まれに残存膵島の肥大がみられることより, β 細胞といえども何らかの機序により再生が誘導される可能性がある。膵 β 細胞の再生機構や再生誘導因子を明らかにすることは, 新しい糖尿病治療法の開発にもつながることが期待される。膵 β 細胞の再生には新生と増殖の二つのメカニズムが考えられるが, それらを明確に区別した観察は十分に行われていない。そこで, 同一個体で新生(β 細胞の消失が必要と考えられる)と増殖(残存 β 細胞の存在が必要である)の両現象を区別して観察可能と考えられる糖尿病マウスモデル(アロキサン膵部分灌流糖尿病マウス)を開発し, 膵内分泌細胞再生過程の経時的变化を形態学的手法により分析した。

【方法】

1. 動物: 雄性 ICR マウス 8 週令
2. 糖尿病マウスの作製: 麻酔下に開腹後, 上腸間膜動脈をクランプし, 尾静脈よりアロキサン (100 mg/kg 体重) を注入し, 腹腔動脈支配領域の膵 β 細胞のみを選択的に破壊した。10分後にクランプを解除し閉腹した。アロキサンの血中半減期は2.8分であり, 上記処置により, 膵尾部(灌流部)の β 細胞を選択的に破壊し, 膵頭部(非灌流部)を温存した糖尿病マウスを作製し得た。対照群にはアロキサンの代わりに生理食塩水を注入した。
3. 耐糖能・体重・膵インスリン含量の変化を経時的に検討した。
4. 形態学的検討
 - 1) 膵島数・体積の計測: 処置後5日目, 4週目に, dithizone (100 mg/kg 体重) を尾静脈より注入した後開腹し, 150 μ m の厚さの伸展標本を作製した。dithizone により膵島は染色され, 膵島数および体積の計測に用いた。
 - 2) 免疫組織学的検討: 処置後1, 5日, 4, 20, 48週目において, 細胞のS期に取り込まれる BrdU を腹腔内投与し, 6時間後に, 膵組織をアロキサン非灌流部と灌流部に分けて摘出して, 膵ホルモン, BrdU, サイトケラチン, IPF1/PDX-1 に対する抗体を用いて免疫組織学的に検討した。

- 3) 超微形態学的検討：処置後6時間, 1, 5日目において, 摘出した組織を超微形態学的に検討した。
5. 形態計測：画像処理装置 (KRYPTON-40) を用いた形態計測にて, 膵島の面積・体積・数・BrdU labeling index を測定した。

【成績】

1. 耐糖能・体重の変化：アロキサン処置後, 悪化した耐糖能は徐々に改善し, 48週目には正常化した。体重の増加率は実験群で一時的に低下したが, 12週目には対照群との差は認められなくなった。
2. 膵島数・体積の変化：実験群のアロキサン灌流部では, 処置後数時間で β 細胞の破壊が認められ, 5日目以降には膵島の著明な減少・縮小が観察されたが, その後, 膵島の数および面積 (single β -cell を含む) の経時的な増加が認められた。一方, アロキサン非灌流部では, 膵島面積および膵島内の β 細胞数の増加が認められ, 個々の膵島の体積は増大していたが, 膵島数は有意には増加しなかった。
3. BrdU Labeling Index：実験群の非灌流部において, 5日目を最高値とする増加が認められた。
4. 免疫組織学的および超微形態学的検討：実験群のアロキサン灌流部において, 膵導管上皮細胞配列に連続ないし密接した islet cell cluster (ICC) として認められる β 細胞の新生像が観察された。この ICC 内部には, 全ての膵ホルモン陰性, インスリンの転写因子である IPF1/PDX-1 陽性, かつ膵導管特異的サイトケラチン陽性を示す細胞群が出現した。
5. 膵インスリン含量：実験群の非灌流部において, 対照群に比して, 経時的に増加した。

【総括】 アロキサン膵部分灌流糖尿病マウスを確立した。本マウスにおいて, 糖尿病は48週後に自然寛解した。本糖尿病モデルにおける耐糖能の改善は, アロキサン灌流部における膵 β 細胞の新生現象, および非灌流部における β 細胞の増殖現象にもとづくものと考えられた。また, 本マウスは, 膵 β 細胞の分化・増殖現象, およびこれらを誘導する因子の分析に有用なモデルと考えられた。

論文審査の結果の要旨

膵 β 細胞の再生機構や再生誘導因子を明らかにすることは, 新しい糖尿病治療法の開発にもつながることが期待される。膵 β 細胞の再生には新生と増殖の二つのメカニズムが考えられているが, それらを明確に区別した観察は十分に行われていない。そこで, 同一個体で新生と増殖の両現象を区別して観察可能と考えられる糖尿病マウスモデルを開発し, 膵内分泌細胞再生過程の経時変化を形態学的手法により分析した。

アロキサン処置後, 悪化した耐糖能は徐々に改善し, 48週目には正常化した。実験群のアロキサン灌流部では, 処置後数時間で β 細胞の破壊が認められたが, その後, 膵導管上皮細胞配列に連続ないし密接した islet cell cluster が認められ, その内部には, インスリン遺伝子の転写因子である IPF1/PDX-1 陽性, かつ膵導管特異的サイトケラチン陽性を示す細胞群が出現したことより, β 細胞の新生像であると考えられた。一方, アロキサン非灌流部では, 5日目を最高値とする BrdU Labeling index の増加が認められ, 膵島の面積および, インスリン含量は増加していたが, 膵島数は有意には増加せず, 残存 β 細胞の増殖像が主として観察された。

本研究は, 膵 β 細胞の分化・増殖現象, およびこれらを誘導する因子等の解明に有用なモデルの確立, およびその分析を行っており, 学位の授与に値すると考えられる。