



移植前膵島処置法確立に向けた網羅的遺伝子解析による生物学的機能情報変化の検討

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-01-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 芳賀, 淳一郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000149

論文内容要旨

しめい 氏名	は が じゅんいちろう 芳 賀 淳 一 郎
学位論文題名	移植前膵島処置法確立に向けた網羅的遺伝子解析による 生物学的機能情報変化の検討
<p>【緒言】 膵島移植における膵島の移植前培養の重要性については、いまだ議論が多く意義は確立していない。移植前短期培養のメリットを最大限にし、デメリット最小限にするアプローチが確立できれば、移植後に生着する膵島が増えることが予想され、膵島移植成績の改善に大きく寄与する。近年、マイクロアレイ技術の革新により、膨大な量の生物情報の計測が可能となり、その膨大なデータを用いた生物学的機能解釈やパスウェイ解析を可能とするバイオインフォマティクスの進歩が著しい。今回、マイクロアレイにより得られる情報をバイオインフォマティクスの手法にて解析し移植前の培養膵島の生物学的機能情報変化を網羅的に把握することを目的とする研究を行った。この知見は、移植前に効果的な培養を膵島に施す方法の確立へと発展し、膵島移植の成績改善に寄与しうる重要な意義を有している。</p> <p>【方法】 Wistar ラットの膵島を単離し、新鮮膵島と、1日、3日培養した膵島の膵島生存率と Viability を比較した。次に、各群の膵島を C57BL/6 糖尿病マウスの腎被膜下へ移植し、膵島の生着期間を比較検討した。さらに、mRNA の発現強度を網羅的に測定することを目的に GeneChip® Rat Gene 1.0 ST Array による網羅的な遺伝子発現解析を行い、Ingenuity Pathway Analysis (IPA) に読み込み、生物学的機能およびパスウェイ解析を行った。解析結果から抽出された注目すべき変化について、蛋白発現変化の把握や培養上清サイトカイン測定を行い、遺伝子解析結果のバリデーションを行った。</p> <p>【結果】 膵島は培養すると、培養日数にしたがって膵島の喪失をきたすが、膵島のインスリン分泌能に有意な変化は及ぼさなかった。生着期間を比較すると、新鮮膵島群より、1日培養後膵島および3日培養後膵島群の方が、生着期間が有意に延長することが確認された（新鮮膵島；12.5 ± 1.9日、1日培養後膵島；16.0 ± 1.3日、3日培養後膵島17.0 ± 2.6日、新鮮膵島 vs 1日培養 p=0.017、新鮮膵島 vs 3日培養 p=0.014）。生物学的機能情報解析では、IL-1β, TNF, TGFβ1 といった因子に、上流で制御される変化を認め“Immune cell trafficking”を亢進させる変化が起こっていることが示唆された。一方で、膵島移植の生着延長に関与すると思われる遺伝子として、HMOX1/HO-1 と IL-6 が抽出された。Western Blot 法により培養膵島の HO-1 蛋白の有意に発現亢進が確認され、培養液中の IL-6 濃度の上昇も確認された。</p> <p>【考察】 本研究により、膵島分離後の移植前培養により、ストレスに応答し細胞死を免れようとする反応が起こり生着を延長する可能性のある変化が誘導される一方、炎症反応や免疫担当</p>	

細胞の惹起に関わる変化を制御するには、単純な培養のみでは不十分である可能性が示唆された。移植前培養のメリットを十分享受するためには、炎症反応や免疫担当細胞の惹起に関わる変化をコントロールするアプローチの導入が必要であると思われた。

※日本語で記載すること。1200字以内にまとめること。

学位論文審査結果報告書

平成 28 年 1 月 22 日

大学院医学研究科長様

下記の通り学位論文の審査を終了しましたので報告いたします。

【審査結果要旨】

氏名： 芳賀 淳一郎

学位論文題名： 移植前脾臓処置法確立に向けた網羅的遺伝子発現解析による生物学的機能情報変化の検討

脾臓移植に際しては、脾臓単離後の短期培養により移植成績が改善するとの報告がある。しかし、その必要性については未だ議論されており、確定したものではない。本論文では、移植前の脾臓培養期間に生じる脾臓機能の変化を包括的に調べるため、ラット単離脾臓を用いて網羅的遺伝子発現データに基づくインフォマティクス解析を行った。その結果、1-2日間の脾臓培養により発現亢進する6候補遺伝子、および上流の調節因子として IL-1 β 、TNF、TGB β 1 を抽出した。また、6候補遺伝子のうち HO-1と IL-6 のタンパク質レベルの発現上昇を生化学的に証明した。

審査は外部審査委員を含めた4名で行われた。本論文は新たな脾臓移植法を考案する上で示唆に富む重要な知見を含む、という意見が多数であった。しかし、学位論文全般について不十分、不適切な表現や整合性、簡潔性に欠ける箇所があったため、これらを修正すべき点として列挙し、申請者に改訂を求めた。その後、改訂論文について再度学内審査委員で詳細に吟味した結果、当初のコメントについて適切に修正されていることを確認した。

以上より、本論文は医学界に発信できる価値の高いものであり、本学学位論文としての条件を十分に満たしていると判定した。

論文審査委員

主査 和栗 聡

副査 佐藤 博亮

副査 柳田 知彦