

一 般 演 題 抄 錄

8. ヒト膵分離ラ島に対する新しい 自動化凍結保存法の開発

宮本正章 河村正生 加藤道男
大柳治正

近畿大学医学部第2外科学教室

F Charles Brunicardi* Yoko Mullen*

*UCLA 外科, Los Angeles, U.S.A.

はじめに

臨床的膵ラ島移植の重要な成功要因 (insulin independent patient を目的として) の一つに viability に優れた大量のラ島を移植する事がある。この為には優れた膵ラ島分離法の確立と共に、それに立脚した培養技術、特に長期保存を考えた場合優れた膵ラ島凍結保存法の確立は必須である。我々はすでに新しい islet preservation solution を用いた viability に優れたヒト膵ラ島分離法の確立に成功し、それに立脚したヒト膵ラ島に対する自動化凍結保存法の開発にも成功したためここに報告する。

対象及び方法

分離された膵ラ島を 0.5M Dimethyl sulfoxide (DMSO) + 0.1M Trehalose RPMI 溶液に 24°C 15 分間浸漬後、2.1M DMSO に移し、4°C 5 分間浸漬後 (2-step procedure)、我々が独自に開発したプログラムを有するコンピュータ化した automated cryounit (GR9000, Gordiner Electric Inc. CA) に移入した。nucleation は -6.5°C で惹起され、cooling

rate は -0.3°C/min の slow cooling とし、sample temperature が、-50°C の時点で液体窒素タンクに保存した (-196°C)。解凍は 0.75M sucrose + islet preservation solution 溶液を使用し、37°C water bath に cryotubes を入れ、“急速解凍法”で解凍した。その後 RPMI1640 + 10% fetal bovine serum 培養液で培養し、37°C incubator に静置し、各種膵β機能検査に供した。

結 果

In vitro として static incubation test, perfusion test, insulin biosynthesis test においても 80% 以上の recovery rate を示し、さらに、in vivo としてストレプトゾトシン誘発糖尿病 athymic mice の腎被膜下に 1000 個の凍結解凍ラ島を移植し、糖尿病が治癒し、組織学的にも insulin staining 陽性の凍結解凍ラ島を確認した。

考 察

我々の開発した新しい自動化凍結保存法は有用であり、現在 islet bank の確立を目指している。