

Title	Noninvasive longitudinal quantification of $\beta$ -cell mass with [111In]-labeled exendin-4( Abstract_要旨 )
Author(s)	Fujita, Naotaka
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2020-01-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k22149">https://doi.org/10.14989/doctor.k22149</a>
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	藤田直尚
論文題目	Noninvasive longitudinal quantification of $\beta$ -cell mass with [ $^{111}\text{In}$ ]-labeled exendin-4 ( $^{111}\text{In}$ 標識 exendin-4 を用いた、非侵襲的かつ縦断的なベータ細胞量の定量)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】糖尿病の進行に伴う、膵<math>\beta</math>細胞の全体的な機能低下が報告されているが、その原因として膵<math>\beta</math>細胞量 (beta cell mass : BCM) の低下も関与していることが横断研究から推測されている。BCM の変化を縦断的に把握可能となれば、糖尿病の病態への理解が深まるだけでなく、BCM の維持・増加の観点から治療薬の効果判定にも有用と期待されるが、非侵襲的・縦断的な BCM 定量法は確立されていない。現在、非侵襲的・縦断的な BCM 定量に最も有望とされるのが、膵<math>\beta</math>細胞に特異的に集積する、放射性同位元素で標識したプローブを用い、膵臓から放出される放射能を PET や SPECT で測定する手法であり、GLP-1 受容体を標的としたプローブが最も有望である。今回、GLP-1 受容体のリガンドである exendin-4 を、放射性同位元素 <math>^{111}\text{In}</math> で標識したプローブ (<math>^{111}\text{In}</math>Indium-labeled exendin-4 : <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4) を用い、非侵襲的・縦断的な BCM 定量法の確立を試みた。</p> <p>【方法】①exendin-4 誘導体を <math>^{111}\text{In}</math> で標識後、反応物を精製した。②マウス・インスリン・プロモーター下に GFP を発現させた MIP-GFP マウスに <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 (2.0 MBq) を注射し、60 分後に膵臓を摘出した。合計 9 枚の膵臓切片を作成し、オートラジオグラフィから得られた放射能像と蛍光像から、それぞれ放射能シグナル強度と蛍光強度を測定し、両者の相関を検討した。また、<math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 (2.0 MBq) を注射する 30 分前に、1000 倍の非標識 Exendin(9-39)を事前投与するブロッキング実験も行なった。③10 週齢時と 12 週齢時の 2 回、NOD マウス (N = 10) に <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 (3.0 MBq) を注射し、30 分後から SPECT 撮像を行なった。2 回目の SPECT 撮像終了後、膵臓を摘出した。膵臓切片を作成し、免疫組織学的手法にて BCM を算出した。また、SPECT 画像で同定した膵臓において、関心領域を設定し、<math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵臓への集積量 (<i>in vivo</i>) を求めた。免疫組織学的手法で求めた BCM と、SPECT 画像から求めた <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵臓への集積量との回帰式を求め、得られた回帰式を用いて、SPECT 画像から求めた <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵臓への集積量の推移から BCM の推移を推定した。</p> <p>【結果】①<math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の比放射能は 700 GBq/<math>\mu\text{mol}</math>、放射化学的純度は 95%以上であった。②<math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 を注射した MIP-GFP マウスの膵臓切片の蛍光像での GFP 陽性領域 (膵島) と、放射能像での hot spot (<math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 集積部分) が一致した。ブロッキング実験では、放射能像での hot spot が認められなかった。蛍光強度と放射能シグナル強度の間には強い相関 (R = 0.94) を認めた。③10 週齢時いずれのマウスも正常血糖であったが、12 週齢時、4 匹のマウスは高血糖 (平均 568 mg/dL) を発症し、6 匹のマウスは正常血糖 (平均 124 mg/dL) を維持した。免疫組織学的手法で求めた BCM と、SPECT 画像から求めた <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵臓への集積量の間には強い相関 (R = 0.89) が認められ、回帰式が得られた。SPECT 画像から求めた <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵臓への集積量 (<i>in vivo</i>) に対して、この回帰式を用いることで、高血糖マウス群、正常血糖マウス群で、BCM はそれぞれ平均 1.88 mg から 0.19 mg、1.95 mg から 2.08 mg と推移することが推定された。</p> <p>【結論】<math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵島特異的な集積が示された。MIP-GFP マウスの膵臓切片において、蛍光強度と <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 集積による放射能シグナル強度の間には強い相関を認めた。免疫組織学的手法で求めた BCM と、SPECT 画像から求めた <math>^{111}\text{In}</math>-Ex4 の膵臓への集積量 (<i>in vivo</i>) の間には強い相関が認められ、得られた回帰式を用いることで、高血糖発症前後の BCM の急激な変化を非侵襲的かつ縦断的に推定することが可能となった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

糖尿病の進行に伴う、膵 $\beta$ 細胞量 (beta cell mass : BCM) の低下が示唆されているが、非侵襲的な BCM 定量法は確立されていない。本学位申請者は GLP-1 受容体のリガンドである exendin-4 を  $^{111}\text{In}$  で標識したプローブを用い、非侵襲的・縦断的な定量法の確立を試みた。

MIP-GFP マウスに本プローブを注射し、摘出膵臓切片から集積放射能像と蛍光像を得ると、蛍光像での GFP 陽性領域 (膵島) と集積放射能像での本プローブ集積領域が一致した。一方、大過剰の非標識リガンドによる阻害実験ではプローブ集積を認めなかったため、膵島特異的な集積であると考えられた。

次に 10 週齢・12 週齢時に NOD マウスに本プローブを注射後、SPECT 撮像を行ない、膵集積放射能 (*in vivo*) を求めた。2 回目の 12 週齢時の SPECT 撮像終了後、摘出膵臓切片から免疫組織学的手法で BCM を算出した。免疫組織学的手法で算出した BCM と膵集積放射能 (*in vivo*) の間に強い相関 (R = 0.89) を認め、回帰式が得られた。一方、10 週齢時、10 匹全てのマウスが正常血糖であったが、12 週齢時、4 匹で高血糖を認めた。膵集積放射能 (*in vivo*) に対し、この回帰式を用いて BCM を算出すると、正常血糖マウス群では BCM が 1.95 mg から 2.08 mg と変化し、高血糖マウス群では 1.88 mg から 0.19 mg と低下することが推定された。

以上の研究は、膵 $\beta$ 細胞量の非侵襲的・経時的な定量法の開発に貢献し、糖尿病学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和元年 12 月 25 日 実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降