

2004-00071A

厚生労働省科学研究費補助金  
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

膵島移植実施のための膵島品質管理と  
膵島バンク構築の研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 剣持 敬

平成17年4月

# 目 次

## I. 総括研究報告

膵島移植実施のための膵島品質管理と膵島バンク構築の研究・・・ 1

剣持 敬 国立病院機構千葉東病院臨床研究センター センター長

(資料) 膵島移植実施マニュアル、2004.4月【第2版】

膵・膵島移植研究会/編・・・ 17

## II. 分担研究報告

膵島移植実施のための膵島品質管理と膵島バンク構築の研究・・・ 18

松本慎一 京都大学医学部附属病院臓器移植医療部 助手

III. 研究の刊行に関する一覧表・・・ 27

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・ 30

厚生労働省科学研究費補助金  
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

膵島移植実施のための膵島品質管理と膵島バンク構築の研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 剣持 敬

平成17年4月

研究要旨

重症糖尿病の根治療法としての膵島移植はわが国においても開始され、今後の発展、定着が期待されている。安全かつ有効に膵島移植を実施するためには徹底した膵島品質管理と膵島バンクの構築が必須である。本年度はわが国の実情を考慮して、心停止ドナー膵からの効率的膵島分離・凍結法に関してイヌを用いて基礎的研究を行った。われわれの膵島分離法は心停止モデルにおいてもインスリン分泌能を有する膵島分離が可能であり、われわれの凍結保存法にて、イヌ膵島の効率的凍結保存が可能であった。当院臨床研究センター内にGMP準拠の膵島分離・凍結施設を構築し、臨床膵島分離13例、臨床膵島移植1例を施行した。13例の分離膵島は新鮮膵島移植または凍結保存が可能であり、機能を有する膵島の分離が可能であった。移植を受けた患者は低血糖発作の消失、インスリン必要量の低下が得られ、膵島移植が有効な治療法であることが示された。

A. 研究目的

膵島移植は糖尿病特に1型糖尿病に対する根治療法として位置づけられ、欧米では最近その成績が飛躍的に向上している。わが国においても糖尿病は現在も増加の一途をたどる生活習慣病であり、膵島移植医療の導入が期待される。われわれは1997年より、膵・膵島移植研究会内の作業班を組織し、わが国における膵島移植の臨床実施準備を多施設共同研究で進めてき

た(資料:膵島移植実施マニュアル、2004.4月【第2版】膵・膵島移植研究会/編)。2003年9月には膵島分離・凍結保存が初めて当院において実施、2004年4月にはわが国初の膵島移植が京都大学(共同研究者:松本慎一ら)において施行された。膵臓のドナーが極めて少ないわが国において、膵島移植を効率的に行うためには、分離膵島をバンキングし過不足無く移植に利用することすなわち膵島バンクの構

築が必要である。膵島バンク構築においては、徹底した膵島品質管理技術と viability を低下させない膵島保存法が必須である。本研究では以下の3点につき研究を行う。1) 膵島品質向上の技術開発: 現在カナダのアルバータ大学が考案した Edmonton Protocol に沿った膵島分離法が標準とされている。しかしながらわが国においては心停止ドナー膵からの膵島分離が主となるので、分離においては分離中の膵島保護のための技術開発が必須である。われわれは米国カリフォルニア大学ロスアンゼルス校 (UCLA) との共同研究で、高品質のヒト膵島分離法を独自に開発したが、本法に改良を加えて、心停止ドナー膵からの効率的かつ高品質の膵島分離法を確立する。2) 膵島品質管理・評価の技術開発: 米国 FDA 基準、わが国の治験薬 GMP 基準の検討による膵島品質管理法の作成と実行を行う。また膵島機能の客観的評価法として生化学的評価に加え蛋白レベル、遺伝子レベルでの解析を導入した精密な機能評価法を開発する。3) 優れた膵島凍結保存法の開発: 現在われわれは CP-1 液を用いた大量一括膵島凍結法を用い、回復率 80% 以上 (ラット膵島凍結保存データ) の好成績を得ている。本法を基本とし保存液に膵島保護作用のある Collagen Matrix などを加えて、さらに回収率の上昇を図る。これらを達成すれば、極めて安全性が高く、解凍後に良好な機能を有する膵

島のシェアリングが可能であり、膵島バンクを提供し得る。膵島バンクの構築により分離膵島を公平にかつ効率的に移植に利用することが可能であり、ドナーが限られているわが国においては極めて有用である。

今年度は、わが国の実情に合わせて、心停止ドナーからの膵島分離に関して、イヌ心停止モデルを用いた効率的膵島分離の基礎的研究、CP-1 液を用いたイヌ膵島凍結保存の基礎的研究を行った。さらに当院臨床研究センターに GMP 準拠の Cell Processing Center (CPC) を構築し、当施設を活用して、13 例の臨床膵島分離、1 例の臨床膵島移植を行った。

## B. 研究方法

### 1. イヌ心停止モデルを用いた効率的膵島分離法の開発

#### 1) 動物

ビーグル犬 (7.0-14.0kg) 28 頭を用いた。麻酔はペントバルビタール静脈内全身麻酔にて行った。

#### 2) 心臓停止モデルの作製

ビーグル犬を全身麻酔下に塩化カリウム溶液を静脈内投与して心臓停止させる。心臓停止後 30 分に開腹し死体内灌流を行わず膵臓を摘出 (WIT30-MW(-)群、n=5)、または 4℃ Modified Collins 液にてローラーポンプを用いて死体内灌流し、膵臓を摘出 (WIT30-MW(+)) 群、n=8) した。対照

は非心停止群(WITO 群、n=15)とした。

### 3) 膵島分離法

摘出膵はわれわれの独自の膵島分離法にて行った。すなわち、摘出膵の膵管より 37℃ コラゲナーゼ液 (2.0mg/ml HBSS, Collagenase P, Boehringer Mannheim Co., Indianapolis, IN) を注入し膵を膨化させる。膨化した膵をメカニカルチョッパーにて細切した後、独自の膵島消化装置を用いて膵組織を消化した。消化膵より COBE2991 cell processor を用いて Euro-Ficoll 比重遠心法にて膵島を精製した。

### 4) 膵島形態の観察

膵島分離直後、倒立顕微鏡にて膵島形態を観察した。また抗インスリン抗体、抗グルカゴン抗体にて分離膵島を染色し、形態、染色性につき検討した。

### 5) 膵島数と純度の測定

分離直後に Dithizone 染色を行い、膵島数と純度を測定した。膵島数は 150 $\mu$ m に換算した Islet Equivalent (IEQ) で表した。

### 6) 膵島機能検査

分離膵島のインスリン分泌能を評価するため Perifusion Study を行った。すなわち 500 個 (IEQ) の膵島を低グルコース液 (Krebs Ringer solution with 3.3mM D-glucose) で 80 分間灌流し、ついで高グルコース液 (Krebs Ringer solution with 16.7mM D-glucose) で 30 分間灌流、さらに低グルコース液で 60 分間灌流した。1

分ごとにサンプルを収集し、インスリン濃度を測定した。

### 7) 推計学的検討

データの解析は Student's *t* test にて行い、*p* value が 0.05 未満の場合に統計学的に有意と判断した。

## 2. イヌ膵島凍結保存の研究

### 1) 動物

ビーグル犬 (10.0-12.0kg) 5 頭を用いた。麻酔はペントバルビタール静脈内全身麻酔にて行った。

### 2) 膵島分離法

前述の膵島分離法にて行った。

### 3) 膵島凍結保存法

分離膵島は 12 時間~20 時間培養した後凍結保存した。膵島数を計測後 5% DMSO, 6% HES and 4% FBS を含む RPMI 1640 に混入した。混入操作は氷上で行った。その後 75 ml バッグ (cryogenic storage container, 7005-2, CharterMed Inc., USA) に封入した。膵島を封入した凍結用バッグはプログラムフリーザー (Cryomed Model 1010, Forma Med Inc., USA) にて凍結保存した。凍結プログラムは UCLA との共同研究にて決定した以下表 1 のプログラムを使用した。

表1. 膵島(ヒト, 大動物)凍結プログラム

1. 2.0°C/min until sample=4.0°C
2. 1.0°C/min until sample=-3.0°C
3. 50.0°C/min until chamber=-70.0°C
4. 25.0°C/min until chamber=-10.0°C
5. 0.3°C/min until chamber=-40.0°C
6. 5.0°C/min until chamber=-80.0°C

凍結膵島は最終的に液体窒素タンク内に保存した。4週間保存後、解凍し実験に供した。解凍は37°C 恒温槽にて急速解凍法を用いて行った。膵島は10% FBS 添加したRPMI 1640にて1回洗浄し、同液にて12時間~20時間培養した。培養後、回復率を凍結前後の膵島数の比にて算出した。解凍膵島の機能評価は static incubation にて行った。static incubation は以下の方法で施行した。膵島 10 個を 12 well transwell microplates の各 well に 5 well 分注し、1 ml の RPMI 1640 + 3.3 mM D-glucose + 0.1 % BSA (basal media) を加えた。60 分 CO<sub>2</sub> インキュベータにて培養した後、新たな 12 well microplates に移し、RPMI 1640 containing + 20 mM D-glucose + 0.1% BSA (glucose stimulation) を添加し、60 分 CO<sub>2</sub> インキュベータにて培養した。さらに新たな 12 well microplates に移し、再度 basal media を添加し、60 分 CO<sub>2</sub> インキュベータにて培養した。それぞれの培養液を採取し、ELISA 法にてインスリン濃度を測定し、glucose stimulation media と 2 回目の basal media のインスリン分泌量の比を stimulation Index とした。

### 3. 臨床膵島分離・凍結保存、膵島移植の研究

#### 1) 膵臓摘出・搬送

脳死または心停止ドナーより、膵臓移植に使用されない場合に、ご家族の

同意を得て、膵臓の提供を受けた。膵臓の摘出は「膵島移植実施マニュアル (膵・膵島移植研究会編、初版 2002 年、第 2 版 2004 年)」にしたがって行った。摘出方法：腎摘出後ただちに網膜腔を開いて膵前面を露出する。膵に腫瘍の無いことを確認する。横行結腸間膜、小腸間膜を切離し、膵を後腹膜から遊離する。膵頭部を十二指腸から切離、膵管は十二指腸開口部 (共通管) の部で結紮切離する。膵管結紮糸は長く残しておく。胆管は膵上縁で結紮切離する。脾動脈、門脈、脾臓、リンパ節等の周囲組織をつけずに膵のみを摘出する。膵には物理的損傷が生じないように細心の注意を払う。また腸管の損傷に十分注意する。搬送方法：原則として神戸大学 2 層法により冷却保存、搬送を行った。時間的に不可能な場合は UW 液にて保存、搬送した。

#### 2) 膵島分離・凍結保存

膵島分離・凍結保存は国立病院機構千葉東病院臨床研究センター先端医療技術開発研究部 CPC にて施行した。これらの操作は「膵島移植実施マニュアル (膵・膵島移植研究会編、初版 2002 年、第 2 版 2004 年)」および日本組織移植学会のガイドラインに沿い、無菌的操作で施行された。以下に当院の膵島分離・凍結保存法を示す。

##### (1) 千葉東病院式膵島分離法

- ① 膵臓のクリーニング、重量測定：膵臓周囲の組織を可及的に取り除いた後、重量を測定する。

- ② 膵臓の膨化：主膵管に挿入されたカテーテルより、約 200ml の 37℃ リベラーゼ溶液 (1.5mg/ml) を 20ml 注射筒にて注入し、膵臓を十分に膨化させる。
- ③ 膵細切：膨化膵を 37℃ リベラーゼ溶液とともに、プラスチック容器に移し、メカニカルチョッパーにて約 5-10 秒間細切する。細切された膵組織は約 2mm 角になる。
- ④ 膵臓の消化：細切された膵組織を千葉東膵島消化装置の digestion chamber (図 1) 内に移し、37℃ リベラーゼ溶液で満たす。回路 (図 2) 内を、37℃ リベラーゼ溶液で満たし (200ml/min)、digestion chamber を震盪させる (10 分間、100ml/min)。その後回路内に 4℃ modified Collins 液を 100 ml/min の速度で注入し、同時に消化組織を Collecting Flask に収集する。



図 1 膵臓消化チャンパー

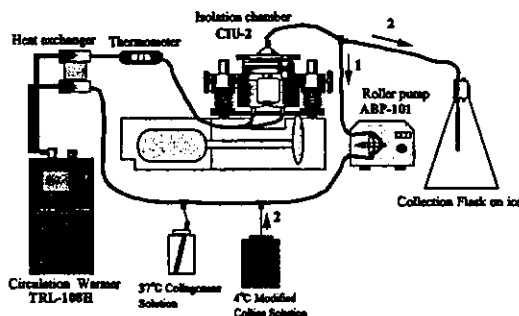


図 2 膵臓消化回路

- ⑤ 膵島の純化：収集された消化組織を 250ml plastic tube に移し、4℃ 下で、遠沈する (1500rpm、5 分)。消化組織を Original Euro-Ficoll solution (最も低層) に suspend する。Cell pellet : solution 比は 1 : 10 ≤ とする。COBE2991 にて discontinuous gradient method にて膵島を純化する (COBE2991 の条件は、2000rpm、5 分間とする)。COBE2991 からの収集は、50ml plastic tube に 37.5ml の 4℃ modified Collins を約 25 本用意し、上清 100ml を捨てた後に、各 tube 12.5ml ずつ回収し、混じる。Tube は 4℃ 下で、遠沈する (1500rpm、5 分)。上清を除去し、sampling にて islet rich の tube を一つにまとめる。全体を 20ml にし、50・1 をマイクロピペットにて採取し、Dithizone 液にて染色、膵島数を計測する。

- ⑥ 純化膵島は serum free medium にて培養する。新鮮膵島移植の基準を満たした場合には翌日移植に用いるが、その他は翌日凍結保存する。

## (2) 膵島凍結保存

- ① 膵島を RPMI1640 にて洗浄し 50 ml の膵島懸濁液に調整する。
- ② CP-1 のバイアルにヒトアルブミンを注入する。
- ③ 膵島懸濁液を緩徐に穏やかに注入する。

- ④ 凍結用バッグ（7005-2, CharterMed Inc., USA、75ml 用）2つに分注。
- ⑤ プログラムフリージングシステム（Cryomed Model 1010、Forma Med Inc., USA）にて-80℃に冷却する。
- ⑥ 凍結プログラムは UCLA の方法に準じ、改良を加え前述の表1のように設定した。
- ⑦ 液体窒素中にて保存。

### 3) 膵島移植

Edmonton protocol に従い、分離された膵島は Overnight culture した後、膵島移植班の作成した「新鮮膵島移植の基準」を満たした場合に、登録患者より膵島移植班事務局、レシピエントを選択する。

#### (1) 膵島移植法

国立病院機構千葉東病院血管造影室にて行う。局所麻酔下に超音波ガイドで門脈穿刺し 4Fr シースを通して、カテーテルを門脈本幹（上腸間膜静脈）に留置。門脈造影した後、膵島浮遊液（約 100ml）を点適法にて門脈内に落とし、移植する。移植中のモニタリングは心電図、血圧、脈拍、酸素飽和度、門脈圧とする。移植前後に超音波ドプラー法にて門脈血流量を測定する。シースの抜去はスポンゼルを造影剤と混じて、塞栓することにより確実な止血を確認しながら行う。

#### (2) 移植後免疫抑制法

当初は、Edmonton protocol に従って行う。表 2 に免疫抑制法を示す。

#### 表2 Edmonton protocol for islet allograft.

1.Sirolims (0.2mg/kg P.O.→0.1mg/kg P.O.

Drug level:12-15ng/ml (3Mo), 7-10 ng/ml(>3Mo))

2.Tacrolimus (1mgP.O.\*2/day, Trough level: 3-6ng/ml)

3.Daclizumab (1mg/kg LV. 2 weeks, total 5 doses).

### C. 研究結果

#### 1. イヌ心停止モデルを用いた効率的膵島分離法の開発

##### 1) 膵臓の肉眼所見

WIT30-MW(-)群では開腹時膵の鬱血が著明で、暗赤色であったのに対して、死体内灌流を行った WIT30-MW(+)群では膵周囲の一部に鬱血がみられるものの、白色を呈し、冷却十分であった。



##### 2) 膵島収量・純度 (図3)

膵島収量・純度は対照群 (WIT0 群) の  $9,176 \pm 3,804$  IEQ/g pancreas、 $90.0 \pm 6.6\%$  に比較し、WIT30-MW(-)群では、各々  $3,395 \pm 3,300$ 、 $66.0 \pm 11.4$  と有意に低下がみられた。WIT30-MW(+)群でも収量  $5,236 \pm 2,343$ 、純度  $76.3 \pm 10.9$  と低下がみられたが、軽度であった。



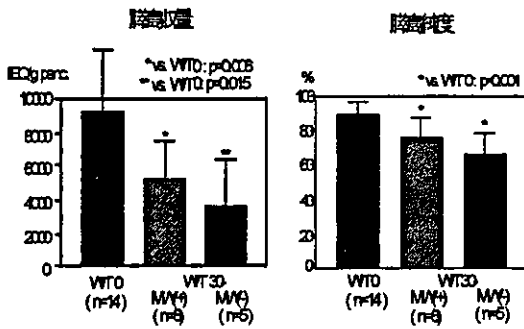


図3 膵島収量、純度

### 3) 分離膵島形態

膵島の形態は WIT30-MW(+) 群では WIT0 群に比較すると一部破碎された膵島の混入がみられるも、十分な形態を保った膵島もみられた。また形態が保持された膵島はインスリン、グルカゴン染色は良好であった。

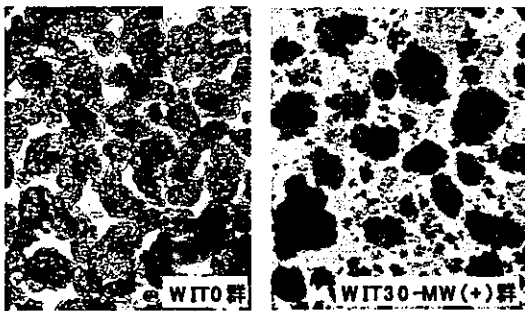


図4 イヌ膵島倒立顕微鏡像

### 4) Perifusion Study (図5)

WIT0 群では高グルコース液の灌流により敏速なインスリン分泌 (First peak) がみられ (Stimulation Index : 4.5)、その後遅延してインスリン分泌 (Second peak) がみられる2峰性の分泌パターンをしめした。WIT30-MW(+) 群でもまた First peak はやや遅れるも Stimulation

Index : 4.00 であり、2 峰性の分泌パターンがみられた。

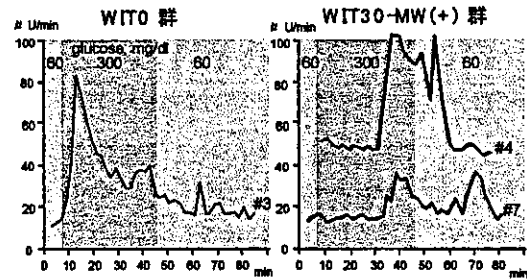


図5 Perifusion Study

## 2. イヌ膵島凍結保存の研究

### 1) 解凍後膵島形態 (図6)

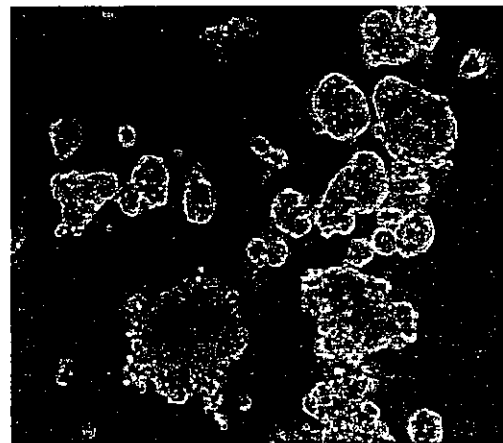


図6 解凍後イヌ膵島倒立顕微鏡像

解凍後の膵島は凍結前に比較して良好に保てれており、Dithizone 染色性も良好であった。膵島回復率も図7に示すように  $71.16 \pm 20.14\%$  (mean  $\pm$  SD) と満足すべきものであった。

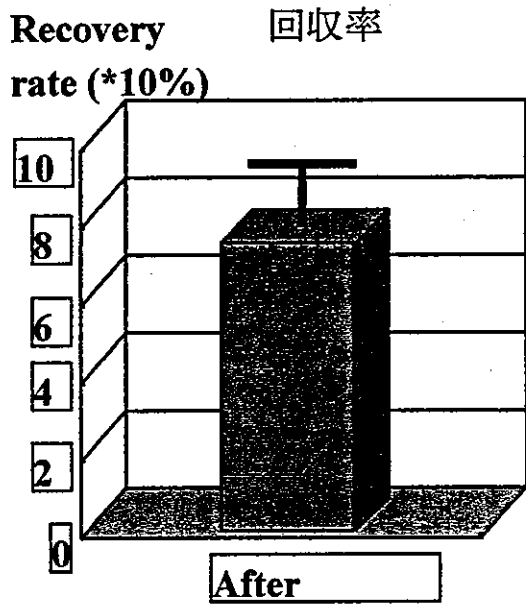


図7 解凍後イヌ膵島回復率

Stimulation index も図8に示すごとく、 $1.80 \pm 0.78$ とインスリン分泌能を有していた。

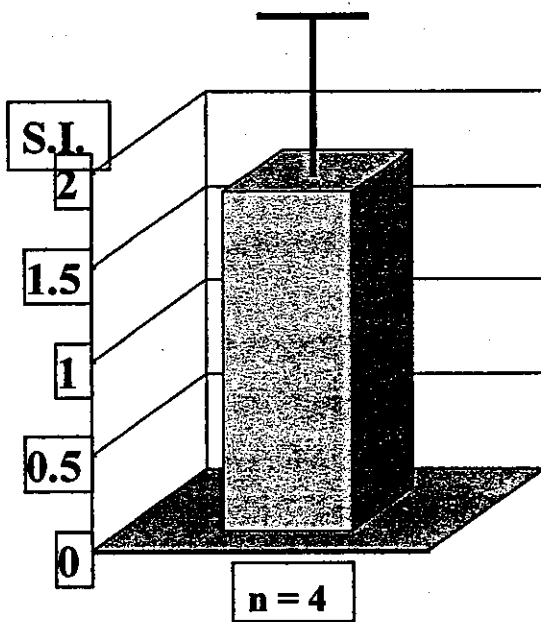


図8 解凍後イヌ膵島膵島機能

### 3. 臨床膵島分離・凍結保存、膵島移植の研究

当院は現在、関東甲信越地域における膵臓摘出、膵島分離・凍結、膵島移植を行っている。平成 15 年 9 月 12 日国内初の膵島分離・凍結保存を施行し、以後平成 17 年 3 月末までに 13 例の膵島分離を行った。以下に 8 例目までの結果について記す。

表 3 に示すように、脳死ドナーからは 1 例であり、他は心停止ドナーからである。膵島収量は 18,693-491,040IEQ、純度は 30-70%であった。static incubation

およびヘパリン投与がされること(結果として WIT が短いこと)、3) 死戦期が短いこと、4) 摘出前の高血糖がないこと、などが重要と考えられた。表 3 の #4 は膵島移植に使用された。膵島分離は独自に開発したメカニカルチョッパーで細切、2 段階消化法にて膵を消化した。COBE2991 を用い、Euro-Ficoll 重層法にて膵島精製を行った。分離膵島は Serum free medium にて培養、培養後の膵島数は 364,653 IEq、グラム染色：陰性、Endotoxin 総量：2.29 EU、組織総量：2.5 ml、純度：75 %と

表3 臨床膵島分離結果

ドナー	年齢	性別	WIT*	CIT**	心停止前 カニューレション	収量(IEq)	純度(%)	SI***	
1	脳死	60代	男	0	436	有	177,800	30	1.53±0.35
2	心停止	40代	女	20	365	無	183,066	70	5.83±1.23
3	心停止	50代	男	3	346	有	60,120	60	3.3±0.6
4	心停止	10代	男	5	217	有	491,040	50	2.61±1.17
5	心停止	40代	女	15	540	無	18,693	80	ND
6	心停止	10代	女	4	327	有	158,507	30	1.42±0.18
7	心停止	60代	女	23	335	無	130,640	40	1.38±0.33
8	心停止	20代	女	30	242	無	122,040	70	2.95±1.65

の stimulation index は 1.53±0.35 から 5.83±1.23 で分離膵島はすべて機能を有していた。高収量、高純度を得るドナーの条件として、1) 高齢でないこと(40才以下)、2) 心停止前のカニューレション

新鮮膵島移植の基準を満たした。レシピエントは 10 代女性。Brittle 型糖尿病。インスリン必要量は計 48 u、血中 C-peptide: <0.05ng/ml であった。局所麻酔した後、超音波ガイドに門脈 (P8)

穿刺し、4 Fr シース挿入後、4.2 Fr カテーテルを送り門脈造影を施行した (図9)。

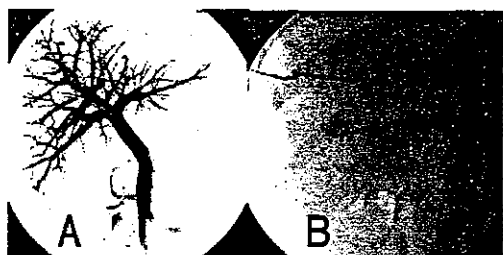
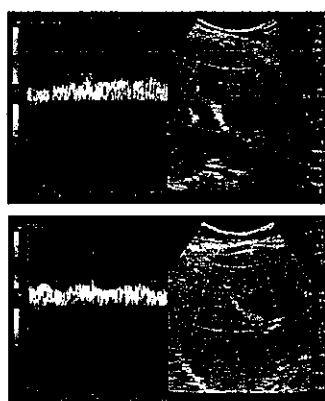


図9 門脈造影(A)、スポンゼル塞栓(B)

その後膵島浮遊液を 20 分間かけて門脈内に点滴注入し移植を完了した。移植前後の門脈血流量も図 10 に示す如く有意な変動は見られなかった。



移植前  
門脈血流 : 18.8 cm/s

移植後  
門脈圧 : 7 mmHg

図 10 移植前後超音波血流ドプラー

移植完了後 4 Fr シース内に造影剤を混入したスポンゼルを塞栓し (図9)、シースを抜去した。免疫抑制法は Edmonton Protocol とした。移植後は合併症無く、血糖コントロールの改善と低血糖発作の消失、インスリン使用量の減少が得られ、高感度 C-peptide 値は 0.05→0.4ng/ml と上昇した。

インスリン離脱は得られなかったが患者 QOL の著明な改善がみられた (図 11)。

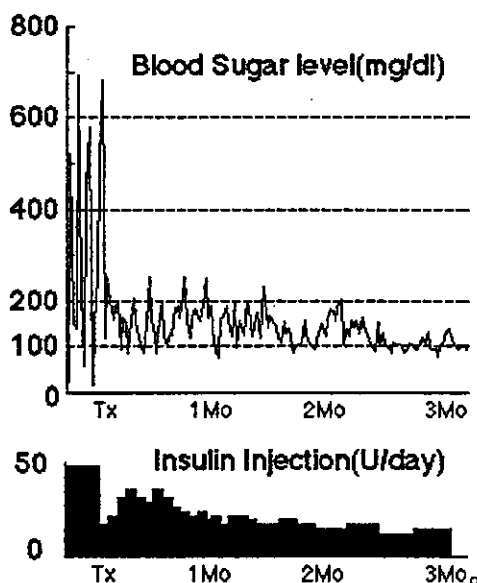


図 11 臨床膵島症例経過

#### D. 考察

臨床膵島移植はわが国において始まったばかりの医療であるが、安全性、低侵襲性の利点を有し、社会的注目を集めている。しかしながら、わが国においては膵臓の提供ドナーのほとんどは心停止ドナーであると予想され、その安全性、有効性については今後の症例の蓄積を待たねばならない。本研究は、そのもっとも重要事項である、品質管理および品質向上を目指すものである。今年度は基礎研究として、イヌ心停止膵島分離モデルを作成して、われわれの膵島分離法が心停止ドナー膵から有効に膵島分離が可能であるかを検討した。膵島数、純度ともに脳死モデル (WIT0 分) に「比較し

て低下したが、得られた膵島のインスリン分泌能は良好であり、また形態も保たれていた。このことより、臨床においても十分新鮮膵島移植に用いられることが予想された。また心停止ドナーでは得られる膵島数が少ない可能性も示唆されるが、本基礎研究より、たとえ新鮮膵島移植に適さない膵島数であったとしても、十分に凍結保存可能な viability を有していることが実証された。また凍結保存法は本研究のもっとも基本となる技術である。われわれは、膵島の凍結、解凍時の膵島傷害を可及的に抑制するために、膵島傷害性の強い DMSO を低濃度とし、HES を加えた CP-1 液に注目し、さらに感染の機会を少なくする目的にて、大量一括バッグ凍結保存法を考案した。イヌ膵島凍結保存モデルを作成し、本法を用いて有効性を確認した。回復率は 70%以上と満足すべき結果を得た。また解凍後の膵島形態も良好で、インスリン分泌能の保持もされており、十分臨床応用可能であることが実証された。しかしながら、さらに回復率の改善、インスリン分泌能の改善が必要であり、今後の本研究の重要課題であると考えられる。以上の大動物を用いた基礎研究結果などを踏まえて、当院では臨床膵島分離・凍結保存・移植を開始した。ヒト膵島分離にあたっては、分離施設の厳格な基準が膵島品質管理には必須と考えられる。当院、京都大学を中心とし、われわれは膵・膵島

移植研究会に膵島移植班を作り、全国統一基準での膵島移植実施を行っている (National Islet Transplant Project)。膵島移植班では当院と京都大学で凍結保存膵島移植のガイドラインを作成中であり、さらに膵島分離・凍結施設、膵島移植施設の認定基準作りを急いでいる。本研究課題の膵島品質管理の研究成果はこの基準作りにきわめて重要なデータを提供している。当院では、GMP 準拠の CPC をすでに設置し運営しており、膵島分離・凍結保存における品質管理向上に努めている。この環境で 13 例の膵島分離、1 例の膵島移植を施行した。8 例目までの検討では、保存搬送液、培養液、凍結保存液の感染チェックでは細菌、真菌、抗酸菌ともに発育せず、当院 (膵島移植班) の膵臓摘出法、搬送法、当院の CPC 環境が膵島品質管理上きわめて有効であることが実証された。また、いずれの膵島もインスリン分泌能を有していたことより、われわれの膵島分離法の有効性が示された。しかしながら、種々の悪条件が重なった心停止ドナー膵からさらに高収量、高純度の膵島分離が可能である方法の開発が不可欠と考えられ次年度以降の課題としたい。1 例の膵島移植症例は、合併症なく施行され低血糖発作の消失、投与インスリン量の減少などきわめて有効な QOL 改善が得られた。しかしながら、インスリン離脱にはいたらず、今後 1 ドナー 1 レシピエントの膵

島移植が可能となるよう、膵島の機能改善対策が必要であると考えられた。効率的膵島分離法とともに、移植後の膵島生着促進の工夫が臨床膵島移植定着のためには不可欠と考えられる。

## E. 結論

今回のイヌを用いた基礎的研究結果を踏まえて、当院にて臨床膵島分離、膵島移植を開始した。心停止ドナー膵からも十分移植に用いる（新鮮または凍結）膵島の確保が可能であることが実証された。しかし、さらに心停止ドナー膵からの膵島数や純度の向上には、1) ドナーマネジメント、2) 膵臓摘出法、3) 保存搬送法、4) 膵島分離法、5) 移植後のレシピエントマネジメント、など多方面からの工夫を加えてゆくことが必要であり、結果的に安全で有効な膵島移植の実施、さらには本医療の発展、定着につながることは明らかであり、次年度以降も研究を重ねてゆく所存である。

## F. 健康危険情報

膵島移植においては安全性が高く、低侵襲性であることより、致死的な合併症は報告されていない。当院で施行した膵島移植例も自覚的、他覚的にまったく合併症は経験しなかった。しかしながら、レシピエントは糖尿病であること、免疫抑制剤を投与することから、

細菌、ウイルスの感染症には十分注意し、長期的にフォローしてゆく必要がある。また、レシピエントが妊娠を希望した場合にも、使用薬剤の胎児への安全性が確立されていないため慎重な対応が必要である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 著書

- 1) 剣持 敬、落合武徳 (2004) 膵臓移植 イヌ (自家膵体尾部移植：糖尿病モデル) 大動物臓器移植実験マニュアル 編集 深尾 立 日本医学館 pp138-142
- 2) 剣持 敬、落合武徳 (2004) ラ氏島移植 ミニブタ 大動物臓器移植実験マニュアル 編集 深尾 立 日本医学館 pp159-163
- 3) 剣持 敬、他 (2005) 膵島移植の現状と将来の可能性 カラー版 糖尿病学 基礎と臨床 編集 門脇孝ら 西村書店 (In press)

#### 雑誌

- 1) 剣持 敬、丸山通広、浅野武秀 ●特集 21世紀の新しい外科治療 移植 膵臓・膵島移植 現代医療 36: 97-102、2004
- 2) 丸山通広、剣持 敬、神宮和彦、岩下 力、浅野武秀 膵島分離における自動消化装置の開発。日本コンピュータ外科学会誌 5, 263-264、2003

- 3) Maruyama, M., Asano, T., Kenmochi, T., Kainuma, O., Iwasaki, K., Miyauchi, H., Saigo, K., Miura, F., Kobayashi, S. and Ochiai, T. Radiofrequency ablation therapy for bone metastasis from hepatocellular carcinoma: case report. *Anticancer Res* 23, 3987-2989, 2003
- 4) Maruyama M, Kenmochi T, Sakamoto K, Arita S, Iwashita C, Kashiwabara H. Simplified method for cryopreservation of islets using hydroxyethyl starch and dimethyl sulfoxide as cryoprotectants. *Transplant Proc.* 36(4):1133-4, 2004
- 5) Maruyama M, Kenmochi T, Asano T, Saigo K, Miyauchi H, Miura F, Ochiai T. Laparoscopic distal pancreatectomy as the total biopsy of the pancreas: tool of minimally invasive surgery. *Hepatobiliary Pancreat Surg.* 11(4):290-2, 2004
- 6) Matsui Y, Asano T, Kenmochi T, Iwakawa M, Imai T, Ochiai T. Effects of carbon-ion beams on human pancreatic cancer cell lines that differ in genetic status. *Am J Clin Oncol.* 27(1):24-8, 2004
- 7) 劍持 敬, 丸山通広, 西村元伸、浅野武秀 1 型糖尿病に対する膵島移植 看護技術 50(13):1-4, 2004
- 8) 劍持 敬, 丸山通広, 西村元伸、浅野武秀 1 型糖尿病における膵ラ氏島移植の現状と将来 *Diabetes Frontier* 5(15): 679-684, 2004
- 9) 劍持 敬, 丸山通広、西郷健一、岩下 力、大月和宣、渡邊里美、浅野武秀 わが国における臨床膵島移植の新しい展開と将来展望 *再生医療* 3(4):69-76, 2004
- 10) 劍持 敬, 浅野武秀、丸山通広、大月和宣、岩下 力、渡邊里美、西郷健一、宮内英聡、白鳥 享、落合武徳 当施設の献腎摘出方法 *Organ Biology (In press)*
- 11) 劍持 敬, 浅野武秀、丸山通広、他 臨床に向けた膵島保存の現状 *Organ Biology(In press)*
- 12) 劍持 敬, 浅野武秀、丸山通広、他 生体膵・腎同時移植の現状と将来 *日外会誌(In press)*
2. 学会発表
- 1) 劍持 敬 一般演題 A1 膵島の分離培養(座長) 第31回膵・膵島移植研究会、岡山、2004. 3. 26
- 2) 劍持 敬, 丸山通広、西郷健一、岩下 力、渡邊里美、西村元伸、浅野武秀、渡辺一男、宮内英聡 生体部分膵・腎同時移植の1例 第31回膵・膵島移植研究会、

- 岡山、2004. 3. 26
- 3) 剣持 敬、浅野武秀、丸山通広、西郷健一、岩下 力、渡邊里美 重症糖尿病根治療法としての膵臓移植と膵島移植の適応について(シンポジウム) 第31回膵・膵島移植研究会、岡山、2004. 3. 26
  - 4) Maruyama, M., Kenmochi, T., Sakamoto, S., Arita, S., Iwashita C. and Kashiwabara, H., Simplified method for cryopreservation of islets using hydroxyethyl starch and dimethyl sulfoxide as cryoprotectants. 9th Congress of the International Pancreas & Islet Transplant Association Dublin, Ireland, 2003. 7. 10
  - 5) 丸山通広、剣持 敬、山田英夫、川田通広、坂本 薫、有田誠司、岩下 力、近藤樹里、柏原英彦 胆道胸腔瘻の合併が疑われた膵・胆道合流異常の1例. 2003年日本肝胆膵外科関連会議、大阪、2003. 5. 14
  - 6) 丸山通広、剣持 敬、岩下 力、有田誠司、坂本 薫、柏原英彦、神宮和彦、浅野武秀 Automated two-step digestion method による膵島分離の実際. 第103回日本外科学会総会、札幌、2003. 6. 05
  - 7) 丸山通広、剣持 敬、山田英夫、坂本 薫、有田誠司、岩下 力、川田通広、近藤樹里、柏原英彦 肝硬変を合併した血液透析患者の消化器外科手術. 第58回日本消化器外科学会総会、東京、2003. 7. 17
  - 8) 丸山通広、剣持 敬、浅野武秀、岩下 力、渡邊里美、有田誠司、坂本 薫、山田研一、柏原英彦 膵島分離・培養法の標準化に向けて- Liberase, Serum-free medium の使用- . 第39回日本移植学会総会、大阪、2003. 10. 27
  - 9) 丸山通広、剣持 敬、有田誠司、岩下 力、西郷健一、楠目健一、柏原英彦 生体腎移植における完全鏡視下ドナー腎摘術の経験. 第8回国立移植研究会、札幌、2003. 10. 31
  - 10) 丸山通広、剣持 敬、有田誠司、岩下 力、西郷健一、楠目健一、柏原英彦 生体腎移植における完全鏡視下ドナー腎摘術の有用性. 第37回日本臨床腎移植学会、松島、2004. 1. 29
  - 11) 丸山通広、剣持 敬、渡邊里美、岩下 力、西郷健一、浅野武秀 わが国における臨床膵島移植のための膵島分離. 第31回膵・膵島移植研究会、岡山、2004. 3. 27
  - 12) 剣持 敬、浅野武秀、丸山通広、渡邊里美、岩下 力、西郷健一 わが国の膵島移植の現状と課題(ワークショップ) 第47回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2004. 5. 13
  - 13) 剣持 敬、西郷健一、丸山通



- 広、岩下 力、浅野武秀、宮内英聡、落合武徳 臍体尾部切除術における GABEXATE MESILATE の有用性—臍液漏防止、臍機能保持の点より— 第16回日本肝胆膵外科学会、大阪、2004. 5. 13
- 1 4) 剣持 敬 臍—1 1 (座長) 第16回日本肝胆膵外科学会、大阪、2004. 5. 13
- 1 5) 剣持 敬、西郷健一、丸山通広、岩下 力、大月和宣、渡邊里美、浅野武秀 CP-1 液を用いた臍島一括凍結法の基礎的検討と臨床応用 (シンポジウム) 第11回日本臓器保存生物医学会総会、広島、2004. 5. 21
- 1 6) 剣持 敬 一般演題1 (P-1) 「免疫・ドナー拡大」(座長) 第11回日本臓器保存生物医学会総会、広島、2004. 5. 21
- 1 7) 剣持 敬 移植医療の現況について (特別講演) 第23回国臨協関信支部千葉地区会定期総会、千葉、2004. 7. 3
- 1 8) 剣持 敬 AP/C2 monitoring の有用性：生体臍腎同時移植 Cyclosporin Pharmaco-Clinical Forum 2004、名古屋、2004. 7. 24
- 1 9) 剣持 敬 パネルディスカッション「臍島移植の現状と展望」(司会) 第3回日本組織移植学会・学術集会、横浜、2004. 8. 28
- 2 0) 剣持 敬、浅野武秀、丸山通広、西郷健一、岩下 力、渡邊里美 わが国における臨床臍島移植の現状と課題 (パネルディスカッション) 第40回日本移植学会総会、岡山、2004. 9. 16
- 2 1) 剣持 敬、浅野武秀、丸山通広、西郷健一、大月和宣、岩下 力、宮内英聡 生体部分臍・腎同時移植の1例 第40回日本移植学会総会、岡山、2004. 9. 16
- 2 2) 剣持 敬 臍島 (講演) 第1回 JOTCo. ・都道府県 Co. ・組織移植 Co. ・アイバンク Co. 合同セミナー、東京、2004. 9. 25
- 2 3) 剣持 敬 重症糖尿病に対する臍・臍島移植の現況と展望 (特別講演) 第49回千葉糖尿病スタッフ研究会、千葉、2004. 10. 9
- 2 4) 剣持 敬、丸山通広、浅野武秀\*、西郷健一、大月和宣、岩下 力 1型糖尿病性腎不全に対する生体臍・腎同時移植 第1回臓器不全患者に対する外科・管理研究会、千葉、2004. 10. 9
- 2 5) 剣持 敬、浅野武秀\*\*、丸山通広、西郷健一、岩下 力、大月和宣、西村元伸 1型糖尿病に対する生体部分臍・腎同時移植の1例 第66回日本臨床外科学会総会、盛岡、2004. 10. 13
- 2 6) Takashi Kenmochi, Takehide Asano, Ken-ichi Saigo, Michihiro Maruyama, Chikara Iwashita, Kazunori Ohtsuki Successful simultaneous

- pancreas and kidney transplantation from a living donor. - First case in Japan- 5th Korea-Japan Transplantation Forum, Seoul, Korea, 2004. 10. 23
- 27) 剣持 敬 糖尿病性腎症に対する移植医療—先端医療である膵島移植、膵腎同時移植とは？—(特別講演) 第17回腎臓病を考える会(千葉県腎臓病協議会)、千葉、2004. 10. 30
- 28) 剣持 敬 膵島移植について(講義) 杏林大学医学部保健学科講義、八王子、2004. 11. 2
- 29) 剣持 敬 わが国の膵島移植の現状と展望(特別講演) 第7回近畿膵移植検討会、大阪、2004. 11. 13
- 30) 剣持 敬 腎不全に対する先端医療の導入—膵臓・膵島移植、BMI療法について—(講演) 平成16年度腎疾患研修会、千葉、2004. 11. 18
- 31) 剣持 敬 生体膵・腎同時移植の臨床(講演) 第11回千葉県糖尿病性腎症研究会、千葉、2004. 11. 19
- 32) 剣持 敬 膵島移植の現状と課題(特別講演) 第122回糖尿病談話会、東京、2004. 11. 24
- 33) 剣持 敬 糖尿病性腎症に対する膵臓・膵島移植の現状(特別講演) 千葉市医師会外科医会学術講演会、千葉、2004. 11. 25
- 34) 剣持 敬 膵島移植について(特別講演) 千葉県 IDDM の会「なつつ」第1回勉強会、千葉、2004. 11. 28
- 35) 剣持 敬、西郷健一、丸山通広、岩下 力、大月和宣、浅野武秀、宮内英聡、落合武徳 1型糖尿病腎不全に対する生体膵・腎同時移植の導入 第1093回千葉医学会例会、千葉、2004. 12. 19
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
- Mullen Y, Kenmochi T. Preparation and storage of pancreatic islets. United States Patent #5,919,703 Jul. 6, 1999

資料：

膀胱移植実施マニュアル、2004.4月【第2版】

膀胱・膀胱移植研究会/編

# 膵島移植実施マニュアル

(膵島移植班)

2004.4月【第2版】

**Manual for Clinical Islet Transplantation in Japan**

April 2004  
(The 2nd Edition)

The Japan Society for Pancreas and Islet Transplantation

膵・膵島移植研究会/編