

図1 膵島移植の方法

討、登録、啓蒙などを行ってきた。以下に膵島移植班で討議、決定してきたわが国の臨床膵島移植実施体制につき述べる。

1. 膵島移植の位置づけと実施体制

膵島移植班では、わが国の膵島移植実施を全国統一チームで公平・公正に行うことを骨子とする「膵島移植の指針」¹⁾を刊行した。膵島移植は糖尿病、糖尿病性腎症を対象とするため、腎臓移植や膵臓移植との整合性を図る必要があり、その位置づけは複雑であった。膵島移植班ではわが国の現状を踏まえて、膵島移植を組織移植の範疇で扱い、臓器移植とは独立して行うことが妥当であると結論した。この方針を厚生労働省臓器移植対策室に報告し、以下に示す見解を受けた。

厚生労働省見解(2001年4月13日)：

「膵島移植のための膵臓摘出について、遺族の承諾のみでこれを行うことは臓器移植法に抵触するものではない。

ただし、いったん膵臓移植の目的で摘出した膵臓を膵島移植のために用いることはできない。*なお、脳死した者の身体から膵島移植のための膵臓摘出については、他の臓器移植のための臓器摘出がなされる場合は特段の問題はないと考えられる(すでに、皮膚、心臓弁の提供が行われている実態がある)。」

他の組織移植医療のネットワークを参考にし、膵島移植自主ネットワークの構築を行った²⁾。Quality Control委

治療法である。糖尿病に対する移植医療は、膵臓移植が米国を中心に広く行われているが³⁾、膵島の障害である糖尿病の病態を考えると膵島移植は理論的に優れた治療法といえる。1974年、初の臨床同種膵島移植が行われたが⁴⁾、その後は散発的に行われるにすぎず、成績も不良であった⁵⁾。膵島移植の成績が飛躍的に向上したのは、2000年に発表されたカナダのアルバータ大学の臨床例である⁶⁾。分離膵島を速やかに移植すること(新鮮膵島移植)、腎不全を伴わない患者に移植すること、ステロイドを使用しない免疫抑制法などの特徴があり、1年インスリン離脱率は現在でも80%を超え、膵臓移植に匹敵する成績である⁷⁾。

わが国においては、膵・膵島移植研究会ワーキンググループ「膵島移植班」が中心となり、数年にわたり全国の多施設共同研究として膵島移植の臨床実施準備を進めてきた。膵島移植班の活

動の結果、2003年9月12日、わが国で初の膵島分離・凍結保存が行われた⁸⁾。また2004年4月7日、京都大学においてわが国初の膵島移植が施行され、同年4月24日、当院で10代女性に2例目の膵島移植を施行した。

本稿では、膵島移植班の取り組みの経過と準備状況を紹介し、当院で施行された膵島分離・凍結保存、膵島移植症例の検討より、わが国の膵島移植の現状と問題点、および将来展望につき考察する。

膵・膵島移植研究会ワーキンググループ「膵島移植班」の活動

膵島移植班は1996年8月にわが国での臨床膵島移植実施を目的に発足、翌年3月に膵・膵島移植研究会内のワーキンググループとして承認された。膵島移植班ではわが国の膵島移植臨床実施のための医学的検討、社会的基盤整備、膵島移植希望患者の適応検

員会, 自主管理委員会, 適応検討委員会, 膵島移植評価委員会を設置し, 常に公平・公正に移植を遂行するシステムを構築した(図2)。また, 遵守する指針として日本組織移植学会のガイドライン^{13,14}に沿うこととした。

膵島移植班での決定事項の文書化, および社会への公表・啓蒙のため, 以下の小冊子を刊行した。①膵島移植の指針(1998)⁹⁾, ②膵島移植を知っていますか?(1999, レシピエント啓蒙用), ③膵島移植のための膵臓提供について(1999, ドナー家族説明用), ④膵島移植の概要(1999, 移植コーディネーター啓蒙用), ⑤膵島移植実施合意事項(2000), ⑥膵島移植実施マニュアル初版(2002), 第2版(2004)である¹⁰⁾。

2. 膵島移植実施の標準化

膵島移植を全国統一チームで行う目的のため, 膵臓摘出, 保存・搬送, 膵島分離・凍結保存, シェアリング, 移植実施の行程およびレシピエント登録・選択をマニュアル化, 標準化した。

膵臓摘出・搬送: 提供者(ドナー)は家族の承諾を得た心停止ドナーが主となる。脳死ドナーでは膵臓提供の意志がある場合には膵臓移植に用いることが原則であるが, 適する膵臓移植レシピエントが存在しない場合は, 家族の承諾を得た上で心, 肺, 肝, 腎など脳死下臓器摘出後に摘出を行う。ドナー適応基準は日本組織移植学会の基準を満たし, 70歳未満で, かつ糖尿病, 膵炎の既往がなく, アルコール依存症がないこととする。摘出された臓

器の保存・搬送には膵臓保存に有効性が得られ^{15,16)}, 臨床膵島移植に広く用いられている^{15,16)}, 黒田らの開発した神戸大学二層法またはUW solutionを用いることとする。

膵島分離・培養・凍結保存: 現在, 米国ではThe Food and Drug Administration(FDA)が膵島分離施設を10施設に限定し, 安全性, 有効性の向上を目的にその分離行程を統一した方法で行うこととした¹⁷⁾。わが国でも統一した分離法・凍結保存法が理想であるが, 現在は施設ごとの工夫がされており, 完全な標準化は今後の課題である。しかしながら, 現在の欧米先進施設での分離法の検討, 膵島品質管理の点から以下のことを共通認識とした。①膵管にカニューレションして膨化させること, ②消化酵素はリベレースを用い

ることが望ましい, ③COBE2991 cell processorを用いて膵島を精製する, ④全行程に動物由来の血清(fetal bovine serumなど)を使用しない, などである。凍結保存も各施設のマニュアルに従って行い, 膵島分離・凍結保存行程は日本組織移植学会のガイドラインに沿ってQuality control(品質管理)を施行し, 記録・保存する。

膵島移植においてはQuality controlは安全性, 有効性の点で重要と考えられる。Quality controlは, 感染のチェックおよび予防, 膵島の機能評価の2点から行う。膵島分離・保存中の感染予防に関しては, ①ドナー適応基準を遵守, ②無菌操作, ③細菌, 真菌培養検査, ④動物由来血清の不使用, などを遵守する。分離膵島の機能検査はstatic incubation(膵島インスリン分

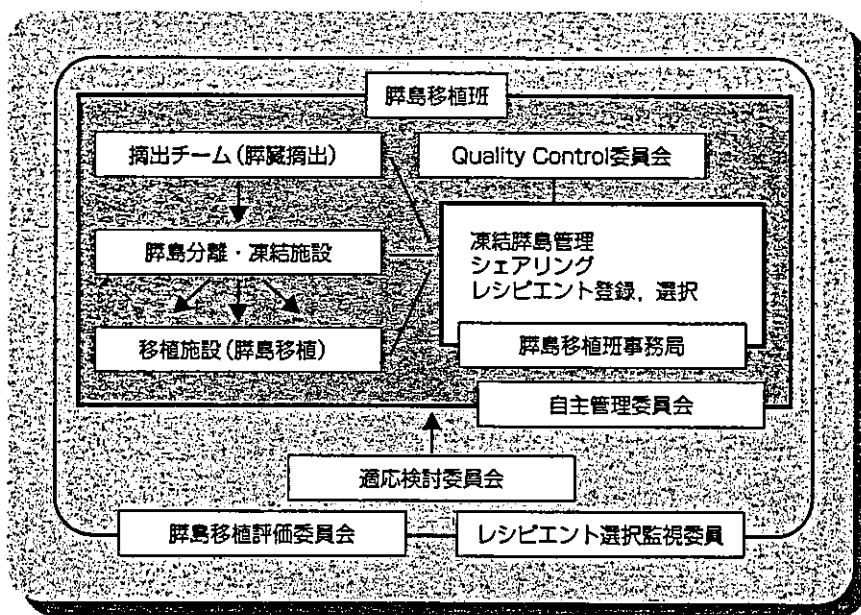


図2 わが国における膵島移植実施体制

泌能)の方法をマニュアル化して統一した¹⁰⁾。

膵島移植の適応、レシピエント登録：膵島移植の具体的適応基準を表1に示す。膵島移植の適応は主治医により作成された膵島移植適応判定申請書¹⁰⁾が適応検討委員会において審査され決定される。審査の上で重要なことは内因性インスリン枯渇の証明、血糖

の不安定性である。2004年7月末日現在、すでに49名が登録されている。

膵島移植の実施：当初はEdmonton protocolに従い、新鮮膵島移植を実施する。膵島分離結果で表2の基準を満たした場合には、登録患者より選択して実施される。レシピエント選択は以下の順で行われる。①地域性(分離・凍結施設に登録されている)、②ABO血

液型一致、③すでに膵島移植を受け、インスリン離脱が得られていない例(膵島移植の目的はインスリン離脱が原則であるので、特に当初数例は再移植、再々移植を優先する)、④待機日数。レシピエント選択に関してはレシピエント選択監視委員(図2)がチェックを行い、公平性・公正性を確認する。膵島移植法として現在、欧米の臨床で広く用いられているのは、経門脈的に肝臓内に移植する方法である。わが国においても最終的には移植施設が決定するが、本移植法を採用すべきであると考えている。移植後の管理として最も重要なことは免疫抑制法を選択である。Edmonton protocolの成功の最大の要因は膵島への毒性を最小限とするためステロイドを用いず、タクロリムスを低量にした免疫抑制法といえる¹¹⁾。わが国においても当初はEdmonton protocolを実行することを原則とした。しかし現在、わが国ではシロリムスとダクリズマブは入手できず、移植施設の個人輸入に頼る点が問題点である。

1. 適応

- 1) 内因性インスリンが著しく低下し、インスリン治療を必要とする。
- 2) 糖尿病専門医の治療努力によっても、血糖コントロールが困難。
- 3) 原則として75歳以下。
- 4) 膵臓移植、膵島移植につき説明し、膵島移植に関して、本人、家族、主治医の同意が得られている。

2. 禁忌

- 1) 重度の心疾患、肝疾患(心移植または肝移植と同時にを行う場合には考慮する)
- 2) アルコール中毒
- 3) 感染症
- 4) 悪性腫瘍(5年以内に既往がないこと)
- 5) 重症肥満
- 6) 未処置の網膜症
- 7) その他、移植に適さないもの

表1 わが国の膵島移植適応基準

分離膵島が以下の条件を満たすときに、新鮮膵島を移植する。

1. 膵島量 $\geq 5,000$ IE/kg (患者体重)
2. 純度 $\geq 30\%$
3. 組織量 ≤ 10 mL
4. Viability $\geq 70\%$
5. Endotoxin ≤ 5 EU/kg (患者体重)
6. グラム染色陰性

表2 新鮮膵島移植の基準(参考)

国立病院機構 千葉東病院における膵島分離・凍結保存例

当院では1996～2004年6月まで膵島移植班事務局が、現在は関東甲信越ブロック事務局が置かれ、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。2003年9月12日、国内初の膵島分離・凍結保存を施行した。以後、2004年7月末までに8例の膵島分離を行った。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18,693~491,040 IEqとばらつきが大きかった。491,040 IEqの例では後述するように、膵島移植に用いたが、他は凍結保存した。純度は30~80%であった。膵島機能の指標であるstatic incubationから算出したstimulation indexは $1.38 \pm 0.33 \sim 5.83 \pm 1.23$ で、分離膵島はすべてインスリン産生機能を有していた。高収量、高純度を得ることが新鮮膵島移植実施の必須条件であるが、8例の検討より、ドナーの条件として、①高齢でないこと(40歳以下)、②心停止前のカニューレーションおよびヘパリン投与がなされること[結果として温阻血時間(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。今後さらに検討を重ね、収量、純度への影響因子

の解析および改善、障害膵からの有効な膵島分離技術の開発が必要と考えられる。また、現在は成績の点より新鮮膵島移植が優先されるが、心停止ドナーがほとんどで、レスピレータオフの頻度が低いわが国では、いわゆるmarginal donorが多く、新鮮膵島移植に利用できない低収量の膵島を凍結保存する必要性が高い。今後は提供していただいた膵島を確実に移植に用いるための優れた凍結保存技術開発も重要なテーマと考えられる。

国立病院機構 千葉東病院に おける膵島移植症例

ドナー：10代男性。死因：交通外傷、血液型：A型(+)、脳死診断の後、カニューレーションおよびヘパリン投与。WIT：5分、両側腎摘出後、膵臓を摘出。膵臓の灌流・冷却状況は極めて良好であり、直ちに二層法にて

冷却保存し、搬送した。

膵島分離：膵島分離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Cell Processing Roomにて施行した。リベレース溶液にて膵臓を膨化したところ、膨化は極めて良好であった。膨化膵を独自に開発したメカニカルチョッパーで細切、二段階消化法にて膵臓を消化した。膵島精製はCOBE2991を用い、Euro-Ficoll重層法にて行った。膵島収量は491,040 IEq (5,517 IEq/g膵臓)と良好で、純度も50%であった。この時点で、新鮮膵島移植が可能と考え、膵島移植班事務局に連絡、レシピエントが選択され当院外科に入院となった。分離膵島はserum free mediumにて培養した。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%と新鮮膵島移植の基準を満たし

ドナー	年齢	性別	WIT	CIT	8時間以上の低血圧	血糖値 >300mg/dL	心停止前カニューレーション	膨化	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	76	2.95 ± 1.65

WIT：温阻血時間(分) CIT：冷阻血時間(分) SI：static incubationのstimulation index

表3 国立病院機構 千葉東病院における膵島分離例

た。最終的に膵島は100mL生理食塩水+25%アルブミン液内に浮遊させた。

膵島移植：レシピエントは10代女性。5歳発症の1型糖尿病。移植前インスリン投与量は計48U、血中高感度C-peptide値は $<0.05\text{ng/mL}$ であり、低血糖発作が頻回なBrittle型糖尿病である。糖尿病性腎症(一)、活動性網膜症(一)であった。膵島移植は当院血管造影室にて施行した。局所麻酔した後、超音波ガイド下に門脈(P8)穿刺し、4Frシース挿入後、4.2Frカテーテルを送り門脈造影を施行した(図3)。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。移植中は血圧、脈拍数、血中酸素飽和度、門脈圧を持続的にモニター

した。いずれも有意な変動はみられず、移植前後のpower dopplerによる門脈血流量にも有意な変動はみられなかった。移植完了後、4Frシース内に造影剤を混入したスポンゼルを塞栓し、シースを抜去した。移植当日は絶飲食、安静臥床とし、翌日、超音波検査、腹部CT検査にて腹腔内に異常のないことを確認し、安静を解除、食事を開始した。免疫抑制法はEdmonton protocolとした。移植後は合併症がなく、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(図4)、高感度C-peptide値は 0.05ng/mL から 0.4ng/mL へと上昇した。インスリン離脱は得られなかったがQOLの著明な改善がみられた。今後、再移植によるインスリン離脱を目

的としている。

わが国の膵島移植の将来展望

わが国の臨床膵島移植は、長きにわたる「膵島移植班」の共同研究、および厚生労働省、学会、日本臓器移植ネットワークをはじめとする関係各部門との協力体制の末、実現したばかりの医療であり、今後その真価が問われることになる。わが国では欧米に比してドナー数が圧倒的に少なく、しかも心停止ドナーが主となるため、ドナーの条件が厳しい、いわゆるmarginal donorがほとんどである。本医療をわが国で定着させるためには、条件の厳しいドナーからの有効な膵臓摘出、膵島分離の技術を改善していくとともに、優れた膵島凍結保存技術を開発し、収量の少ない膵島も移植に有効に活用していくことが肝要と考えられる。また、膵島分離・凍結保存・移植にかかる費用はすべて各施設の研究費などでカバーしているのが現状であるが、膵臓保存・膵島分離・凍結保存には巨額の費用を要する。また、膵島移植に必要な免疫抑制剤も高額であり、今後の本医療の定着には高度先進医療の認定、保険医療の認定が必須である。当院では1例の膵島移植を経験し、本医療のすばらしさを実感した。今後、さらに技術的・手技的な改善に努力するとともに、医療費のシステム構築や広く社会に受け入れられる医療とすべく、膵島移植班全体で活動していく所存である。膵島移植実施にあたっては

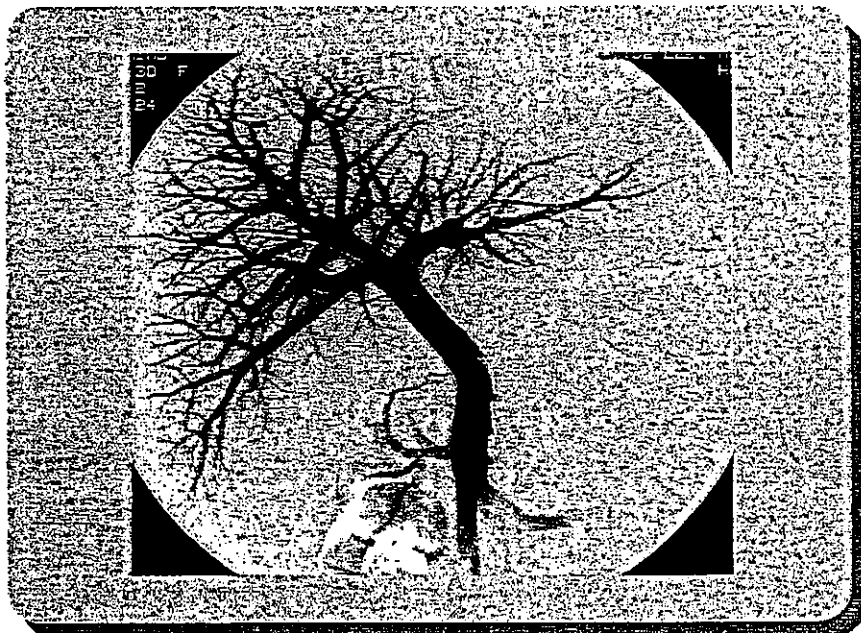


図3 門脈穿刺、カテーテル挿入、門脈造影

膵島移植班以外の多くの方々のご理解とご協力をいただいた。今後ご助言、ご批判をお願いして稿を終えたい。

謝 辞

膵島移植実現に、多大なご協力をいただいている膵島移植班メンバー諸兄の活動に深く感謝いたします。

●文 献

- 1) Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, et al: Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 292: 1389-1394, 2001
- 2) Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, et al: *In vitro* cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 7999-8004, 2000
- 3) International Pancreas Transplant Registry: Annual Reports, 2003 Mid Year Update (<http://www.iptr.umn.edu/annualreports.htm>)
- 4) Najarian JS, Sutherland DE, Matas AJ, et al: Human islet transplantation; a preliminary report. *Transplant Proc* 9: 233-236, 1977
- 5) Islet Transplant Registry. Newsletter #1, Vol. 1, 1991 (www.med.uni-giessen.de/itr/)
- 6) Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al: Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 343: 230-238, 2000
- 7) アルバート大学, 金 達也先生提供データ (personal communication)
- 8) 日本経済新聞, 2003年9月12日夕刊記事
- 9) 膵・膵島移植研究会: 膵島移植の指針, 1998

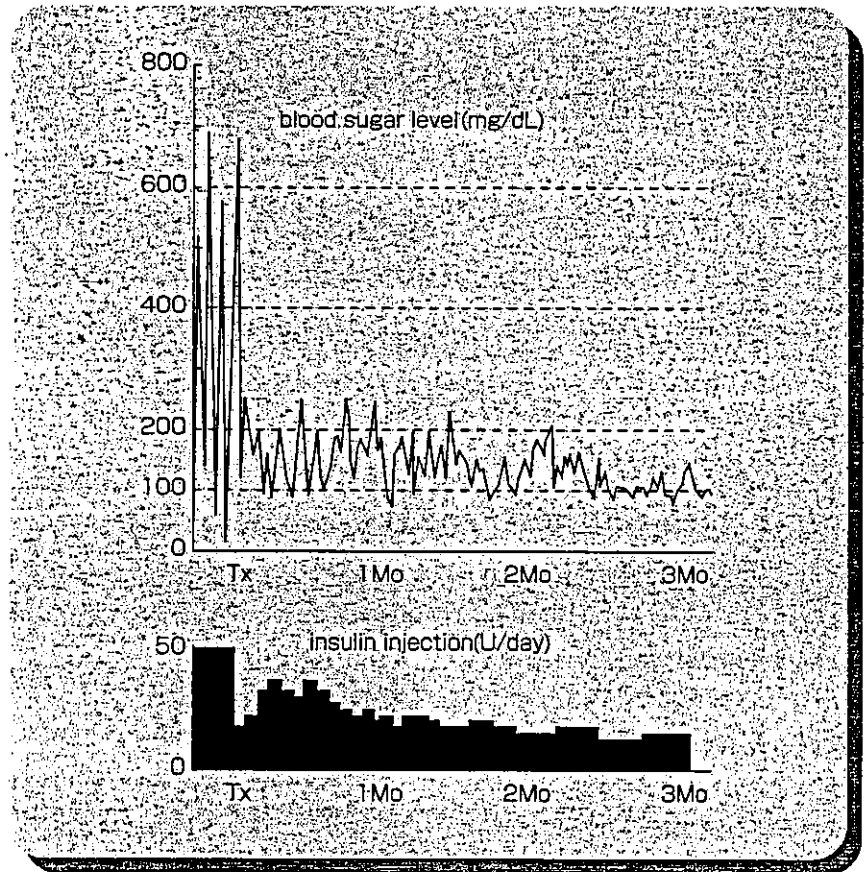


図4 膵島移植後の血糖値とインスリン投与量の推移

- 10) 膵・膵島移植研究会「膵島移植ワーキンググループ」: 膵島移植実施マニュアル(膵島移植班). 2002年5月初版, 2004年4月第2版
- 11) 島崎修次, 北村惣一郎, 有賀 徹, 他: ヒト組織を利用する医療行為の倫理的問題に関するガイドライン. *日本組織移植学会雑誌* 1: 35-44, 2002
- 12) 北村惣一郎, 島崎修次, 糸満盛憲, 他: ヒト組織を利用する医療行為の安全性確保・保存・使用に関するガイドライン. *日本組織移植学会雑誌* 1: 45-49, 2002
- 13) Tanioka Y, Kuroda Y, Kim Y, et al: The effect of ouabain (inhibitor of an ATP-dependent Na⁺/K⁺ pump) on the pancreas graft during preservation by the two-layer method. *Transplantation* 62: 1730-1734, 1996
- 14) Hiraoka K, Kuroda Y, Suzuki Y, et al: Outcomes in clinical pancreas transplantation with the two-layer cold storage method versus simple storage in University of Wisconsin solution. *Transplant Proc* 34: 2688-2689, 2002
- 15) Matsumoto S, Qualley SA, Goel S, et al: Effect of the two-layer (University of Wisconsin solution-perfluorochemical plus O₂) method of pancreas preservation on human islet isolation, as assessed by the Edmonton Isolation Protocol. *Transplantation* 74: 1414-1419,

- 2002
- 16) Lakey JR, Tsujimura T, Shapiro AM, et al : Preservation of the human pancreas before islet isolation using a two-layer (UW solution-perfluorochemical) cold storage method. *Transplantation* 74 : 1809-1811, 2002
- 17) Weber DJ, McFarland RD, Irony I : Selected Food and Drug Administration review issues for regulation of allogenic islets of langerhans as somatic cell therapy. *Transplantation* 74 : 1816-1820, 2002



Simplified Method for Cryopreservation of Islets Using Hydroxyethyl Starch and Dimethyl Sulfoxide as Cryoprotectants

M. Maruyama, T. Kenmochi, K. Sakamoto, S. Arita, C. Iwashita, and H. Kashiwabara

ABSTRACT

Cryopreservation is an ideal method for long-term storage of human islets. Dimethyl sulfoxide (DMSO) has been used as an intracellular cryoprotectant. However, because of its toxicity, DMSO has to be added stepwise and diluted stepwise with sucrose. We combined hydroxyethyl starch (HES) as an extracellular cryoprotectant with DMSO to simplify the freeze-thawing procedure. Islets were isolated from the pancreas of beagle dogs by an automated digestion method and Ficoll purification. After overnight culture, the islets were cryogenically stored using cooling by a programmed freezing system. After 4-week storage in liquid nitrogen, the container was rapidly thawed in a 37°C water bath. The function of the islets was assessed upon static incubation immediately after thawing, showing a recovery rate of $71.16\% \pm 20.14\%$ and a stimulation index of 1.80 ± 0.78 . In conclusion use of HES allowed a decrease in DMSO concentration and simplified the freeze-thawing procedure for islets.

CRYOPRESERVATION IS AN ideal method for long-term storage of human islets. According to International Islet Transplant Registry (#9, 2001), insulin independence was achieved if over 6000 IEq/kg body weight are transplanted. Cryopreserved islets combined with fresh islets have achieved insulin independence for patients with type 1 diabetes.¹ Dimethylsulfoxide (DMSO) has been used as intracellular cryoprotectant. However, because of its islet toxicity DMSO has to be added stepwise.² Low concentration of DMSO (5%) combined with hydroxyethyl starch (HES) as extracellular cryoprotectant have been used for cryopreservation of bone marrow or peripheral blood stem cell.³ We applied this method to cryopreserve islets and simplify the thawing process.

MATERIALS AND METHODS

Islets were isolated from the pancreata of five adult beagle dogs by an automated two-step digestion method that we have developed followed by Ficoll purification. After overnight culture, a known number of islets were suspended in RPMI 1640 containing 5% DMSO, 6% HES, and 4% FBS on ice, then transferred into 75-mL cryogenic storage containers (7005-2, CharterMed Inc, Lakewood, NJ, USA). The container was cooled using a programmed freezing system, Cryomed Model 1010 (Forma Med Inc, Marietta, Ohio, USA). After 4-week storage in liquid nitrogen, the container was rapidly thawed in a 37°C water bath. The islets were sedimented and resuspended with RPMI 1640 containing 10% FBS.

After overnight culture the number of islets was measured and the recovery rate calculated by comparison with the number before cryopreservation.

To assess the function of the thawed islets, static incubation was performed. Briefly, five aliquots of 10 islets were placed into 12-well transwell microplates with 1 mL RPMI 1640 containing 3.3 mmol/L D-glucose, 0.1% BSA as basal medium. After 60 minutes the culture transwells were transferred into new 12-well microplates with RPMI 1640 containing 20 mmol/L D-glucose and 0.1% BSA (glucose stimulation). After 60 minutes the culture transwells were transferred to new 12-well microplates to add basal medium again for an additional 60-minute culture. Each medium was centrifuged and immediately frozen for later assay of insulin concentration by ELISA. The stimulation index was calculated by comparing the insulin content in the glucose stimulation medium with the second basal medium.

RESULTS

Morphologically the shape of frozen-thawed islets was well maintained; fragmentation or clumping of islets was hardly observed. Recovery rate after thawing was $71.16\% \pm$

From the Department of Surgery, Sakura National Hospital, Chiba, Japan.

Address reprint requests to Michihiro Maruyama, MD, PhD, Department of Surgery, Sakura National Hospital, 2-36-2 Ebaradai, Sakura, Chiba 2858765, Japan. E-mail: maruyama@snh.hosp.go.jp

20.14% (mean \pm SD) and the stimulation index of the static incubation was 1.80 ± 0.78 .

DISCUSSION

In this study we evaluated a simple method of islet cryopreservation using HES and a low concentration of DMSO. The recovery rate after thawing was 71.16% and islet function was well maintained. Our results indicate that the use of HES as a cryoprotectant combined with DMSO can avoid a complicated freezing-thawing process. This simpli-

fied method may be applicable to clinical human islet preservation.

REFERENCES

1. Warnock GL, Kneteman NM, Ryan E, et al: *Diabetologia* 34:55, 1991
2. Rajotte RV, Warnock GL, Kneteman NM, et al: *Transplant Proc* 21:2638, 1989
3. Katayama Y, Yano T, Bessho A, et al: *Bone Marrow Transplant* 19:283, 1997

Laparoscopic distal pancreatectomy as the total biopsy of the pancreas: tool of minimally invasive surgery

MICHIHIRO MARUYAMA¹, TAKASHI KENMOCHI¹, TAKEHIDE ASANO², KENICHI SAIGO¹, HIDEAKI MIYAUCHI³, FUMIHIKO MIURA³, and TAKENORI OCHIAI³

¹Department of Surgery, Sakura National Hospital, 2-36-2 Ebaradai, Sakura, Chiba 285-8765, Japan

²Department of Digestive Surgery, Chiba Cancer Center, Chiba, Japan

³Department of Academic Surgery, Chiba University Graduate School of Medicine, Chiba, Japan

Abstract

Because of recent progress in imaging modalities, the opportunities to detect pancreatic cystic neoplasms are increasing. However, serous cystadenoma is still uncommon. We report a case of serous cystadenoma treated by laparoscopic distal pancreatectomy. A 52-year-old woman presented with mild upper abdominal pain. Dynamic computed tomography (CT) revealed a solitary cystic lesion 3 cm in diameter in the pancreatic tail. Endoscopic ultrasound showed a honeycomb pattern, indicative of serous cystadenoma. To obtain the final diagnosis of the tumor, we performed laparoscopic distal pancreatectomy. A histopathological study showed microcystadenoma with no evidence of malignancy.

Key words Serous cystadenoma · Laparoscopic pancreatectomy · Minimally invasive surgery · Total biopsy

Introduction

The opportunity to detect pancreatic cystic neoplasms is increasing, because of recent progress in imaging modalities such as ultrasound (US) and computed tomography (CT). Serous cystadenoma is considered to be benign, while mucinous cyst neoplasms are considered to be low-grade malignant or malignant. For serous cystadenoma, minimally invasive surgery should be performed. We report a case of serous cystadenoma in a patient in whom laparoscopic distal pancreatectomy was performed as minimally invasive surgery.

Case report

A 52-year-old woman presented with mild upper abdominal pain. Computed tomography (CT) showed a

30-mm heterogeneous mass in the tail of the pancreas that was slightly enhanced (Fig. 1). Magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) showed a high-intensity area in the tail of the pancreas. The pancreatic duct and the bile duct were intact. Angiography showed a tumor stain in the venous phase, without vascular encasement. Endoscopic ultrasound (EUS) showed a honeycomb pattern, indicative of serous cystadenoma. To obtain the final diagnosis of the tumor, we performed laparoscopic distal pancreatectomy. The operation was performed with the patient under general anesthesia and placed in the hemilateral position. After the insertion of five trocars the greater omentum was divided, using laparoscopic coagulating shears (LCS). The splenic artery was ligated extracorporeally, the splenic vein was clipped, and both vessels were cut with scissors. The body of the pancreas was mobilized and transected with a linear stapler (Fig. 2). The connective tissue between the pancreas edge and spleen was divided with a linear stapler. The initial plan was to preserve the spleen, but, because of uncontrollable active bleeding from the hilar portion of the spleen, splenectomy was performed. A histopathological study showed microcystadenoma with no evidence of malignancy. The patient had no trouble during the postoperative course and has shown no sign of recurrence 3 years after the operation.

Discussion

Serous cystadenoma is considered to be benign, while mucinous cyst neoplasms are considered to be low-grade malignant or malignant. Precisely diagnosed asymptomatic serous cystadenoma may be observed. However, large tumors, over 5 cm in diameter, have been reported to result in liver metastasis postoperatively¹ or to invade lymph nodes and peripheral adipose tissue.² Therefore, symptomatic or large tumors should

Offprint requests to: M. Maruyama

Received: August 13, 2003 / Accepted: October 29, 2003

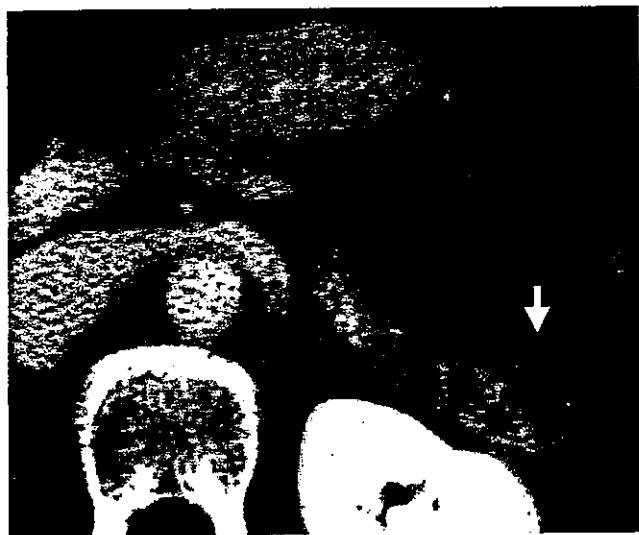


Fig. 1. Computed tomography (CT) shows a 30-mm heterogeneous mass in the tail of pancreas, with slight enhancement (arrow). After distal pancreatectomy, this tumor was found to be cystadenoma of the pancreas, with a typical microcystic honeycomb pattern

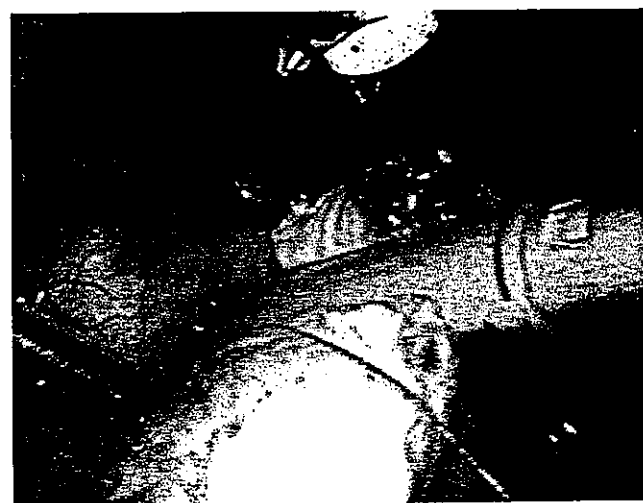


Fig. 2. The body of the pancreas is transected with a linear stapler (arrow). The tumor was clearly observed in the tail of pancreas (arrowhead)

be resected. Extended operations are unnecessary for serous cystadenomas, and minimally invasive surgery should be performed, because they have no or only slight malignant potential.

The advantage of laparoscopic surgery is obvious in cholecystectomy and has been extended to other operations. Laparoscopic pancreatoduodenectomy was first described in 1994,³ but this operation did not become popular because of the complicated procedure and high complication rate.⁴ In contrast, laparoscopic distal pancreatectomy has been performed for chronic pancreatitis, insulinoma, and even adenocarcinoma. This

procedure is less invasive for patients and is suitable for benign or borderline malignant disease.

Distal pancreatectomy with preservation of the spleen was first reported in 1988.⁵ The advantage of preserving the spleen is obvious; it reduces the risk of postoperative severe inflammation and peripheral blood count aberration. Preserving the spleen has been a major procedure in distal pancreatectomy. Warshaw⁵ reported a case of splenic abscess that occurred after sacrificing of the splenic artery and vein. Kimura et al.⁶ reported five patients successfully treated with splenic vessel-preserving distal pancreatectomy to maintain the blood supply to the spleen and to avoid splenic necrosis and abscess. This technique is not always necessary if the size of the spleen is normal and the gastric vessels are maintained. In the present patient, we attempted to preserve the spleen without conservation of the splenic vessels, but, unfortunately, bleeding from the splenic hilus was uncontrollable and splenectomy was performed after the pancreatectomy.

Preoperative diagnosis of serous cystadenoma is not easy because of morphological variations of the tumor. Preoperative diagnostic accuracy in a multiinstitutional retrospective study of 398 cases was 20%.⁷ We have experienced four cases of serous cystadenoma in our institutions. Three of the four patients were diagnosed by the detection of the typical honeycomb pattern, using EUS or extracorporeal US. One patient was misdiagnosed as having an intraductal papillary mucinous tumor before the operation, because of macrocysts and a solid lesion detected on EUS. Fine needle aspiration of cyst fluid has been reported to aid in the preoperative diagnosis of serous cystadenoma.⁸ However, fine needle aspiration poses the risk of dissemination of mucin-producing cells and is therefore not popular for preoperative studies. EUS is the most useful modality for detecting small cystic lesions to distinguish serous from mucinous cystadenoma. In the present patient, because EUS showed a honeycomb pattern, serous cystadenoma was suspected. We performed distal pancreatectomy as minimally invasive surgery. Precisely diagnosed small-size serous cystadenomas can be observed without operations. The preoperative diagnosis of serous cystadenoma is very important to determine the indication for the operation. The performance of several diagnostic imaging studies is necessary to avoid excessively invasive surgery.

References

1. Eriguchi N, Aoyagi S, Nakayama T, Hara M, Miyazaki T, Kutami R, Jimi A (1998) Serous cystadenocarcinoma of the pancreas with liver metastases. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 5:467-470
2. Abe H, Kubota K, Mori M, Miki K, Minagawa M, Noie T, Kimura W, Makuuchi M (1998) Serous cystadenoma of the pancreas with

- invasive growth: benign or malignant? *Am J Gastroenterol* 93: 1963-1966
3. Gagner M, Pomp A (1994) Laparoscopic pylorus-preserving pancreatoduodenectomy. *Surg Endosc* 8:408-410
 4. Tagaya N, Kasama K, Suzuki N, Taketsuka S, Horie K, Furihata M, Kubota K (2003) Laparoscopic resection of the pancreas and review of the literature. *Surg Endosc* 17:201-206
 5. Warshaw AL (1988) Conservation of the spleen with distal pancreatectomy. *Arch Surg* 123:550-553
 6. Kimura W, Inoue T, Futakawa N, Shinkai H, Han I, Muto T (1996) Spleen-preserving distal pancreatectomy with conservation of the splenic artery and vein. *Surgery* 120:885-890
 7. Le Borgne J, de Calan L, Partensky C, the French Surgical Association (1999) Cystadenomas and cystadenocarcinomas of the pancreas: a multiinstitutional retrospective study of 398 cases. *Am Surg* 230:152-161
 8. Compton CC (2000) Serous cystic tumors of the pancreas. *Semin Diagn Pathol* 17:43-55

日本臨牀 63 卷 増刊号 4 (2005 年 4 月 28 日発行) 別刷

臨床免疫学(上)

—基礎研究の進歩と最新の臨床—

臨床編

III. 移植免疫

脾島移植

松本慎一

膵島移植

Islet cell transplantation

松本慎一

Key words : 膵島移植, 1型糖尿病, 免疫抑制剤, シロリムス, エドモントンプロトコール

はじめに

我が国ではインスリンが生命の維持に不可欠である1型糖尿病患者は5万-15万人いると考えられている。1型糖尿病は発症すれば、インスリンでコントロールはできるが根治はできないと長い間考えられていた。しかし、膵臓移植あるいは膵島移植の出現により、1型糖尿病が根治できることが欧米で証明され、日本でも臨床応用が開始された。

1. 1型糖尿病

膵島移植の対象となる1型糖尿病は主に小児期に発症し、通常数年でインスリン分泌が枯渇する。インスリン分泌が完全枯渇の状態になると血糖値のコントロールが難しくなる。つまり、ヘモグロビンA_{1c}(HbA_{1c})を正常に近づけようとすれば、頻回の低血糖発作を起こし、低血糖を避けようとすれば血糖値を高値にしなければならない。また、厳密に血糖値のコントロールを行っても網膜症、腎症、神経障害などの二次合併症が多く、10数年後には発症し始める。更に、大血管病変である心筋梗塞、脳卒中が起こりやすくなる。最近の大規模疫学調査で、インスリン注射による高インスリン血症が原因で大腸癌、肝癌の発症率が上がることが判明した¹⁾。このように、1型糖尿病は、急性および慢性期の合併症や、心筋梗塞、脳卒中、発癌

率の上昇といった合併症を引き起こし得る病気である。

2. 膵島移植

a. 膵島移植の背景

1型糖尿病の治療として、1960年頃から廃絶したインスリン分泌の機能を他人からの臓器あるいは組織の移植によって置換しようという考えが出てきた。これが、膵臓移植と膵島移植である。膵臓移植、膵島移植の目的は、生体で行われているぐらいの厳格な血糖調節と糖尿病の二次合併症の防止である。単にインスリン療法による日常の煩わしさから患者を解放することが目的ではない。

膵臓組織のほとんど(95%以上)が消化酵素を産生・分泌する外分泌腺で、血糖調節の主役となっている膵島組織が占めている割合はわずか(5%以下)である。血糖値のコントロールには不要である外分泌腺を除去し、必要な膵島組織のみを移植しようというのが膵島移植である。膵島移植の臨床実施は1974年に始まっている。1999年までに欧米で約300例の膵島移植が行われたが、その成績は芳しいものではなく、一般の治療法として導入できるものではなかった。しかし、膵島移植は、最小の危険性で糖尿病発症以前に最も近い状態を取り戻すことのできる、まさに‘夢の治療’であり、人々の膵島移植に対する期待とその実現への希望は絶大なるものが

Shinichi Matsumoto: Kyoto University Hospital Transplantation Unit 京都大学医学部附属病院 臓器移植医療部

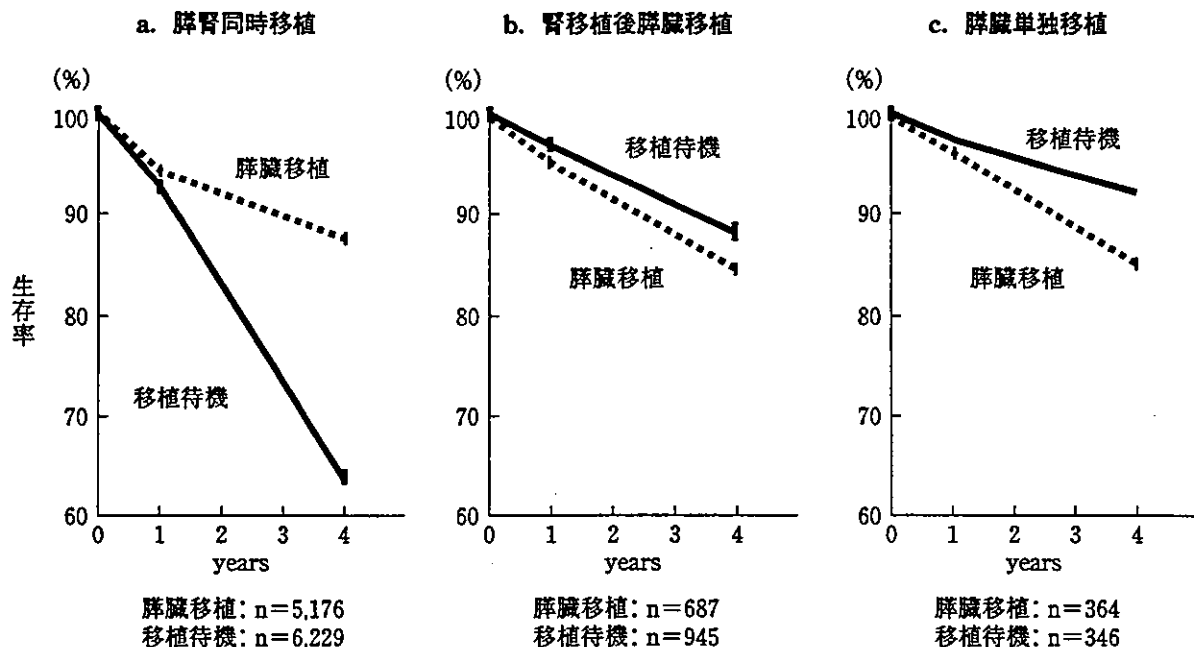


図1 膵移植後および待機患者の生存率

膵腎同時移植の待機患者は腎不全を伴い生命予後が不良で、移植によって生命予後が著明に改善する(a)。腎移植後あるいは腎機能が良好な1型糖尿病患者に対しては膵臓移植によって生命予後がかえって悪化する(b, c)。(Venstrom JM, et al: JAMA 290: 2817, 2003)

あった。

b. 膵臓移植と膵島移植

膵臓移植は、比較的大きな移植手術であり、術後死亡を含む重篤な合併症のリスクがあることから、主に1型糖尿病でも生命予後が不良な腎不全を伴う患者に対して腎臓移植と同時に行う。膵臓移植を腎移植後あるいは腎機能が良好な1型糖尿病患者に行うことによって生存率がかえって低下することが判明し、膵臓腎臓同時移植以外の膵臓移植は慎重に行うことが提唱された²⁾(図1)。膵島移植は逆に、移植が点滴のみで手術が不要であり安全性が高いことから、主に二次合併症が始まるあるいは進行する前に膵島単独移植として行われる。もちろん膵島腎臓同時移植や腎臓移植後膵島移植も欧米では行われている。

膵臓移植は、移植時の合併症が最小になるように欧米では脳死ドナーでも状態の良いドナーを選ぶ。このため脳死ドナーの膵臓のおよそ5-25%のみが膵臓移植へと使われる³⁾。膵島移植は、一般に膵臓移植に利用できなかった残りのドナー膵を利用する。心停止ドナーからの膵臓

移植あるいは膵島移植は欧米ではほとんど行われていない。日本では、現時点では脳死ドナー膵は全例膵臓移植に用いられている。日本の膵島移植は心停止ドナーからの膵臓のみを利用しているが、生体ドナー膵島移植の可能性もある⁴⁾。

c. 膵島移植のエドモントンプロトコール

膵島移植の歴史に大きな転換をもたらす出来事が1999年にカナダ・アルバータ大学で起きた。1型糖尿病でインスリン療法による血糖調節が非常に困難であり腎不全の出現していない7人の患者に対して膵島移植を行い、すべての症例においてインスリン療法からの離脱を可能とした⁵⁾。彼らの方法は‘エドモントンプロトコール’として世界に広がった。エドモントンプロトコールの特徴は、以下の4つがあげられる。

- (1) 免疫抑制剤としてステロイドを省き新しいTOR阻害剤であるシロリムスを導入した。
- (2) インスリン離脱するまで膵島移植を続けて、通常2-3回の移植を行った。
- (3) 膵臓摘出から膵島分離までの膵臓保存時間および膵島分離から膵島移植までの時間をで

きるだけ短くした。

(4) エドモントン膵島分離法を確立した。

このプロトコルは、著者らも参加した世界9施設でのエドモントンプロトコルによる1型糖尿病の治療のトライアルでその安全性および有効性が確認された⁶⁾。特に重要なのは、エドモントンプロトコルで300例以上の膵島移植が行われているが、死亡を含む重篤な合併症が1例もなく、安全性に優れた治療であるという点である。

d. 膵島移植の免疫抑制療法

1) エドモントンプロトコルの免疫抑制療法

エドモントンプロトコルの特徴の一つがステロイドを省いた免疫抑制療法である。免疫抑制の導入として、インターロイキン2のレセプター抗体であるダクリツマブを用いる。免疫抑制の維持はTOR阻害剤のシロリムス、および少量のカルシニューリン阻害剤のタクロリムスを用いる。ダクリツマブは経静脈的に体重1kgあたり1mgを14日ごとに5回投与する。シロリムスは血液中の濃度のトラフ値(底値)が最初の3カ月までを12-15ng/ml、それ以降を7-10ng/mlになるように投与量を調整する。タクロリムスはトラフ値が最初の3カ月までを4-6ng/ml、それ以降を3-5ng/mlになるように投与量を調整する。臓器移植の免疫抑制療法の中心的役割を担うステロイド剤は全く使わない。シロリムスとタクロリムスはお互いの効果を増強させる作用があり、タクロリムスの投与を通常の臓器移植で用いるより大幅に少なくすることでタクロリムスの糖尿病原性を最小限にすることができる。

この免疫抑制療法の主な合併症は、82%にみられた口腔内潰瘍と62%にみられた高脂血症である。クレアチニンレベルの異常は移植前から上昇していた例を除けばなかった。エドモントンプロトコルを用いて3年間のフォローアップ期間中、日和見感染症や悪性腫瘍は全くなかった⁷⁾。シロリムスとステロイドとシクロスポリン併用の腎臓移植の場合3年間で10%以上の発癌があったことと比べても、エドモン

トンプロトコルが格段に安全な免疫抑制療法であることがわかる。

2) シロリムスの特徴

エドモントンプロトコルの主役はシロリムスである。シロリムスはイースター島の土壌から発見された。

シロリムスの免疫抑制効果は抗原刺激やサイトカイン(IL-2, IL-4, IL-15)によるTリンパ球の活性および増殖を抑制することによる。シロリムスは細胞内の蛋白であるFKBP12に結合するが、FKBP12はタクロリムスも結合する。このため、*in vitro*の実験では両者の効果は打ち消し合う。しかし、*in vivo*の実験では両者の効果は互いを増強させる。シロリムスとFKBP12が結合した複合体はカルシニューリンに対しては作用せず、mammalian target of rapamycin (mTOR)に結合しその活性を抑制する。mTORの活性を抑制することで、Tリンパ球の増殖を抑制するとともに細胞がG1期からS期に移行することを阻止する。

シロリムスはタクロリムスと同様に肝臓のCYP3A4およびP糖蛋白の基質となり代謝される。半減期に男女差があり、男性の半減期は72.3時間であり、女性の半減期は61.3時間で、女性の投与量は男性よりも多く必要である。いずれの場合も半減期が長いために血中濃度のコントロールが困難な場合がある。

シロリムスは糖尿病原性および腎毒性がないという利点があるが、更に、ブドウ糖のクリアランスを促進する、インスリンのクリアランスを遅らせ血中のインスリン濃度を上昇させるという膵島移植に特に有利な点がある。

3. 京都大学での膵島移植

a. 心停止ドナー膵島移植

欧米の膵島移植は、脳死ドナーからの提供膵臓を用いているが、日本では脳死ドナー膵を膵島移植に用いることは法律上できない。京都大学移植外科では、2003年10月に京都大学医の倫理委員会により、心停止ドナーおよび生体ドナー膵島移植が承認された。心停止ドナーからの膵島移植に関しては、2002年にペンシルバ

ニア大学から成功の1例が報告されたものの、それ以降の報告はない⁹⁾。京都大学移植外科では、まず大動物を用いて、二層法膵臓保存⁹⁾、消化時の膵酵素阻害剤の利用¹⁰⁾、新しい純化溶液の利用¹¹⁾などの工夫を加え心停止ドナーからの膵島分離を確立し、臨床応用を開始した。

b. 膵島分離成績

エドモントンプロトコールに基づいた移植クライテリアは、①膵島の収量が患者の体重1kgあたり5,000IE(1 islet equivalent=150 μ mの膵島1つ)以上、②膵島の純度30%以上、③膵島のviabilityが70%以上、④移植する組織量が10ml以下、⑤移植膵島を含む溶液のエンドトキシンが患者の体重1kgあたり5EU(endotoxin unit)以下、⑥移植膵島を含む溶液のグラム染色陰性の6項目である⁵⁾。

京都大学移植外科では2004年1月から8月までの間に9例の膵島分離を行い、8例がこの移植基準を満たしており膵島分離成功は89%になる。これは、膵島移植をリードするミネソタ大学¹²⁾およびマイアミ大学¹³⁾の脳死ドナーを用いた最近の膵島分離成功率が10-50%であることと比べても好成績であることがわかる。移植条件を満たした8例のうち、7例を実際に1型糖尿病の患者4人に移植することができた。

c. 膵島移植後の経過

膵島移植後、著者らは膵島を高血糖による糖毒性から守るために積極的にインスリン治療を行う。血糖値をみながら投与するインスリンを徐々に減らす方法をとっている。この方法で移植直後から血糖値は非常に安定する。移植を受けた4人の患者のHbA_{1c}の推移を示す(図2)。このように、膵島移植がうまくいけば、移植後1-2カ月でHbA_{1c}はほぼ正常化する。特に1例目の患者は1回目の移植後105日目にインスリン注射が不要になった。

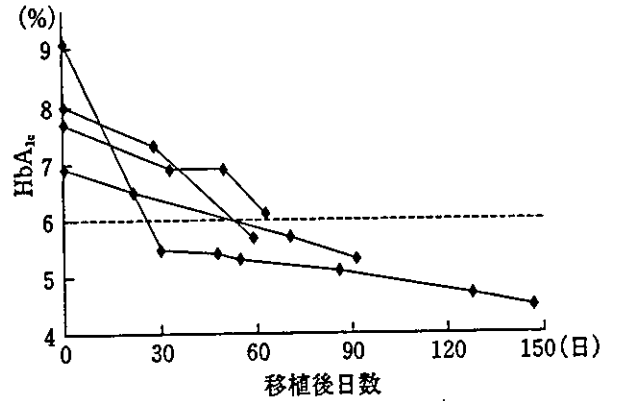


図2 京都大学での4人の1型糖尿病患者に対する膵島移植前後のHbA_{1c}の変化
移植後30-60日でHbA_{1c}は全例ほぼ正常化した。

免疫抑制療法はエドモントンプロトコールに従って、IL-2のレセプター抗体、シロリムス、タクロリムスを使っている。シロリムスに関しては、併用薬物、肝機能、CYP3A4の活性などにより血中濃度が変化するため、目標とする血中濃度を維持するために1日3-12mg必要であった。このようにシロリムスは血中濃度を安定させにくく、血中濃度の頻回のモニターが安定するまでは重要と思われた。著者らが経験した主な副作用は、口腔内潰瘍、貧血、白血球減少、軽度の高脂血症で、重篤な合併症はなかった。

おわりに

膵島移植は安全性の高い1型糖尿病の根治が望める新しい治療法である。我が国でも、京都大学で心停止ドナー膵島移植による1型糖尿病の治療が始まり、我が国1例目の患者は既にインスリン注射からの離脱に成功した。今後更なる研究を重ね、安全性および有効性を改善しより多くの患者がインスリン注射から離脱できることが望まれる。

■ 文 献

- 1) Coughlin SS, et al: Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J Epidemiol* 159: 1160-1167, 2004.
- 2) Venstrom JM, et al: Survival after pancreas transplantation in patients with diabetes and preserved kidney function. *JAMA* 290: 2817-2823, 2003.
- 3) Ris F, et al: Are criteria for islet and pancreas donors sufficiently different to minimize competition?

- Am J Transplant 4: 763-766, 2004.
- 4) Matsumoto S, et al: Transplantation. Efficacy of human islet isolation from the tail section of the pancreas for the possibility of living donor islet transplantation. *Transplantation* 78: 839-843, 2004.
 - 5) Shapiro AMJ, et al: Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 343: 230-238, 2000.
 - 6) Shapiro AMJ, et al: Edmonton's islet success has indeed been replicated elsewhere. *Lancet* 362: 1212, 2003.
 - 7) Hering BJ, et al: Islet transplantation. In: *Transplantation of the Pancreas* (ed by Gruessner RWB, Sutherland DER), p 583-626, Springer-Verlag, New York, 2004.
 - 8) Markmann JF, et al: The use of non-heart-beating donors for isolated pancreatic islet transplantation. *Transplantation* 75: 1423-1429, 2003.
 - 9) Matsumoto S, et al: Effect of the two-layer (University of Wisconsin solution-perfluorochemical plus O₂) method of pancreas preservation on human islet isolation, as assessed by the Edmonton Isolation Protocol. *Transplantation* 74: 1414-1419, 2002.
 - 10) Matsumoto S, et al: Improved islet yields from *Macaca nemestrina* and marginal human pancreata after two-layer method preservation and endogenous trypsin inhibition. *Am J Transplant* 3: 53-63, 2003.
 - 11) Matsumoto S, et al: Immediate reversal of diabetes in primates following intraportal transplantation of porcine islets purified on a new histidine-lactobionate-iodixanol gradient. *Transplantation* 67: S220, 1999.
 - 12) Matsumoto I, et al: Improvement in islet yield from obese donors for human islet transplants. *Transplantation* 78: 880-885, 2004.
 - 13) Ricordi C, et al: Improved human islet isolation outcome from marginal donors following addition of oxygenated perfluorocarbon to the cold-storage solution. *Transplantation* 75: 1524-1527, 2003.

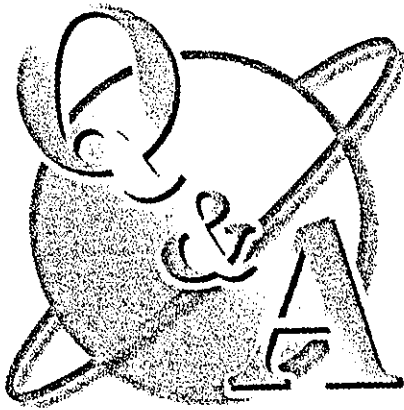
1 型糖尿病

膵島移植とは？

松本慎一

「肥満と糖尿病」 Vol.3 No.6 (2004) 別刷り

丹水社



Question

膵島移植とは？

1型糖尿病の根治治療として期待されている膵島移植について教えてください。

Answer

松本慎一

(京都大学医学部附属病院
臓器移植医療部)

1型糖尿病は、主に小児期に発症し通常数年でインスリン分泌が枯渇します。完全枯渇の状態になると血糖値のコントロールが難しく、血糖値を正常値で維持しようとするれば低血糖発作が起こります。また、厳密に血糖値のコントロールを行っても網膜症、腎症、神経障害などの二次合併症が多く、十数年後には発症し始めます。さらに、大血管病変である心筋梗塞、脳卒中が起こりやすくなるとともに、インスリン注射による高インスリン血症が原因の大腸癌、肝癌の発症率が上がります¹⁾。このように、急性および慢性期の合併症や、心筋梗塞、脳卒中、発癌率の上昇といった致死的な合併症を引き起こす1型糖尿病の根治療法が膵島移植です。

膵島移植は、膵臓から膵島細胞を分離精製し、点滴の要領で肝臓へ移植するもので通常10分から20分で終了します。このため臓器移植と違い患者さんに対する負担は非常に軽いといえます。

膵島はおおよそ1,000個の細胞からなり、その80%は血糖値を関知して必要に応じてインスリンを分泌するベータ細胞です。膵島は細胞の塊というだけでなく、その全体を包むように血管網が張り巡らされています。この膵島の血管網に肝臓から新しく血管が新生し自然と吻合することによって膵島は肝臓の中で生着します。生着は通常数週間から始まり2、3カ月かかります。生着した膵島から血糖値に応じたインスリン分泌が開始します。現在の膵島分離技術では、通常2回から3回の膵島移植を行うことでインスリン注射からの完全離脱が可能となります。ただし、一度の膵島移植で血糖値は安定し(図1)、HbA_{1c}も改善します(図2)。インスリン注射からの離脱率は1年後におおよそ80%で、C-peptide陽性で証明できる膵島生着率は3年たっても90%以上と報告されています。これは、膵臓移植に匹敵するインスリン離脱率と非常に良好な膵島生着率です。

膵島移植の特徴は高い安全性です。2000年にカナダのアルバータ大学から新しい方法が発表されて以来、300例以上の膵島移植が

KEYWORD



膵島分離

生体ドナー膵島移植