

治療法として「膵臓移植」又は「膵島移植」が行われているが、レシピエントにかかる手術侵襲の程度、移植手技の簡便さなどを考慮すると、膵島移植はより患者に優しい根治療法と言える。しかしながら、インスリン離脱などの遠隔成績では膵臓移植を凌駕するまでには至らず、今後の改善が迫られる。膵島移植の遠隔成績不良の原因として勿論、免疫学的な移植膵島の拒絶が第1の原因と考えられるが、膵島移植で広く使われている免疫抑制剤・ラパマイシンによる膵島毒性の可能性も否定できない。

ラパマイシンは細胞内受容体である FKBP12 を介して mTOR に結合し、mTOR の機能を抑制する。その結果、ラパマイシンは細胞にオートファジーを誘導する。オートファジーは細胞内成分をリソソームで分解するための主要な経路である。一方、オートファジーが細胞死に関与している可能性を示唆する報告もある。近年、研究の進歩から、このシステムと神経変性疾患、感染症（細菌からの生体防御）、心疾患（心不全）、膵臓疾患（膵炎）など疾患・病態とオートファジーの関係が明らかになりつつある。

今回の研究により、膵島にオートファジーが誘導されることを確認し、それにより膵島の viability および膵島からのインスリン分泌が低下することを見出した。すなわち、オートファジー誘導は膵島にとって悪影響を及ぼすことが示唆された。しかし、3-MA を併用することによりオートファジー誘導およびそれに伴う機能傷害は回避されることも見出した。今後研究を進め 3-MA などを用いた膵島保護プロトコルの確立を目指す。

E. 結論

ラパマイシン存在下の培養により、膵島にオートファジーが誘導されることを確認した。オートファジー誘導膵島では、正常膵島に比し、islet viability、インスリン分泌能が低下したが、オートファジー阻害剤・3-MA の投与により、オートファジー誘導による islet viability、インスリン分泌能低下は回避され、膵島移植後の遠隔成績改善や膵島品質管理に 3-MA の有用性が期待できると考えている。

F. 研究発表

1. 論文発表

1、Tanemura M, Kawamoto K, Mori M, Ito T, et al. Rapamycin induces autophagy in islets : Relevance for islets transplantation. Transplantation Proceedings. (In press, 2009)

2、Tanemura M, Kawamoto K, Sawa Y, Doki Y, Mori M, Ito T, et al. Adenovirus-mediated gene expression of human c-FLIP_L protects pig islets against human CD8⁺ CTL-mediated cytotoxicity. Transplantation Proceedings. (In press, 2009)

3、Tanemura M, Kawamoto K, Sawa Y, Doki Y, Mori M, Ito T, et al. Intra- and extracellular remodeling effectively prevent human CD8⁺ CTL-mediated xenocytotoxicity by coexpression of membrane-bound human FasL and pig c-FLIP_L in pig endothelial cells. Transplantation Proceedings. (In press, 2009)

4、Kawamoto K, Tanemura M, Ito T, Doki Y, Mori M, Sawa Y, et al. Prolonged survival of pig islets xenograft by adenovirus-mediated expression of either membrane-bound human FasL or human decoy Fas antigen gene. Xenotransplantation 15(5); 333-343, 2008.

5、K. Kawamoto, M. Tanemura, Y. Sawa, Y. Doki, M. Mori, T. Ito, et al. In Vivo Controlling of Cellular Response to Pig Islet Xenografts by Adenovirus-Mediated Expression of Either Membrane-Bound Human FasL or Human Decoy Fas. Transplantation Proceedings. 41(1); 331-333, 2009

2. 学会発表

1、種村匡弘：移植膵島でのオートファジー誘導の臨床的意義ー膵島移植後免疫抑制療法としてラパマイシンは妥当か？ー 第44回日本移植学会総会（大阪・2008）

2、Tanemura M : Intra- and extracellular remodeling effectively prevent human CD8⁺ CTL-mediated xenocytotoxicity by coexpression of human membrane-bound FasL and pig c-FLIPL in pig endothelial cells. 22th International congress of the transplantation society. (Sydney; 2008,8.9-14)

3、Tanemura M : Adenovirus-mediated gene expression of human c-FLIPL protects pig islets against human CD8⁺ CTL-mediated cytotoxicity. 22th International congress of the transplantation society. (Sydney; 2008,8.9-14)

4、Tanemura M : Rapamycin induces autophagy in islets : Relevance for islets transplantation. 22th International congress of the transplantation society. (Sydney; 2008,8.9-14)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3.その他

特になし

分担研究報告書

探索医療の成果としての膵島移植医療の確立
初回膵島移植後データの予備的検討、臨床試験実施計画書の作成に関する研究

分担研究者 山口 拓洋 東京大学医学部附属病院

研究要旨：インスリン依存状態糖尿病患者に対する初回膵島移植後のC-ペプチド濃度、ヘモグロビンA1cなどの各パラメータ間の関係について検討するとともに、本研究班で実施が予定されている臨床試験実施計画書の作成を行った。

A. 研究目的

本研究班で実施が予定されている膵島移植療法の臨床試験計画に関する情報を得るため、初回膵島移植後のC-ペプチド濃度、ヘモグロビンA1cなどの各パラメータ間の関係について検討するとともに、実際の臨床試験実施計画書の作成を行った。

B. 研究方法

- ・ 初回膵島移植後のC-ペプチド濃度、ヘモグロビンA1cなどの各パラメータ間の関係について、既存データをもとに、相関係数や回帰モデルなどを用いて検討した。
- ・ インスリン依存状態糖尿病の治療としての心停止ドナー膵島移植に関する臨床試験実施計画書の作成（特に統計学的側面）を行った。
（倫理面への配慮）
解析には匿名化されたデータを用いた。

C. 研究成果

- ・ 背景情報や糖尿病患者にとって重要なアウトカムなどデータが十分に確認できなかったことやサンプルサイズ不足からあくまで探索的な検討に過ぎないが、例えばC-ペプチド濃度とヘモグロビンA1cの関係は、移植後の時間により一定の傾向は見られなかった。評価項目としてどの時点でのパラメータを用いるかが重要であることが示唆される。
- ・ 主要評価項目を、初回移植1年後のヘモグロビンA1cが7.0以下かつ重症低血糖発作の消失とし、期待割合を70%、閾値割合を40%、検定の有意水準を片側5%、検出力を80%として、20人を目標サンプルサイズとした。

D. 考察

- ・ 不足データを確認し可能であれば必要に応じて補ったうえで、臨床や検査パラメータ間の相互の関連性や、これらと重要なアウトカムとの関連性について引き続き検討すべきである。
- ・ 統計学的な検討項目として特に副次評価項目の解析方法などを含めて、来年度も引き続き検討する必要がある。臨床試験の実施に際しては、測定項目が多いことや患者のフォローアップが長年に渡ることから、データ管理を含めた研究支援体制が重要と思われる。特に、独立データモニタリング委員会の構成と安全性評価・報告体制について慎重に議論する必要がある。

E. 結論

本研究班で実施が予定されている臨床試験実施に向けての既存のデータの解析とそれらを加味した研究計画の策定を行った。来年度も引き続き検討する余地がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表
特になし。
2. 学会発表
特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他

特になし。

分担研究報告書

探索医療の成果としての膵島移植医療の確立
膵島移植医療におけるエンドポイント設定に関する研究

分担研究者 嶋澤 るみ子 東北大学未来医工学治療開発センター

研究要旨

1 型糖尿病治療法としての膵島移植を評価するためのエンドポイントを設定するために、今年度は過去の国内膵島移植症例の結果を、最近のプロトコールで用いられている主要評価項目を用いてレトロスペクティブに検討した。

主要評価項目を参考にした CIT-06&07 においては、HbA1c 値と重症低血糖発作（severe hypoglycemic event）を組み合わせ、主要評価項目としていた。国内膵島移植症例においては、HbA1c の推移のデータは集積されていたが、低血糖発作に関するデータは収集されていなかったため、国内症例の評価として適切であるのか十分な調査は出来なかった。

これまでの膵島移植の評価は、主に数値として測定可能な検査値に頼る傾向があったが、最近実施中の臨床試験においては、QOL に直結する低血糖発作など患者の自覚症状に基づく評価が組み入れられるようになってきている。今後の臨床試験においては、事前に評価すべき低血糖発作を定めてプロトコールを作成・実施するのが重要である。

キーワード：プライマリーエンドポイント（主要評価項目）

A. 研究目的

医療における治療法評価に、適切なエンドポイント（評価項目）の設定は欠かせない。画期的な新規治療法は、既存の疾患治療の概念を変えるものとなるため、新たなエンドポイントの設定が治療法の有効性、安全性の評価の為に必要となってくる。

膵島移植は、当初 1 型糖尿病治療の根治治療になりうる方法として試みられてきた。しかし期待されていたインスリン注射からの完全離脱は、移植後 5 年で 7.5%であることが報告された（Ryan, E.A. et al., Diabetes, 54: 2060-2069, 2005）。その一方で、移植膵島自体は機能し続け、血糖値維持が容

易になり、患者の QOL 向上に貢献できることが明らかになりつつある。

本研究においては、膵島移植が 1 型糖尿病治療の選択肢の 1 つとして標準的治療法となるために必要な、治療のエンドポイント（評価項目）を設定できることを目的とする。適切なエンドポイントが設定できれば、膵島移植のリスクベネフィット評価が可能になり、1 型糖尿病治療法としての位置づけ及び適応患者が明確になると考える。

研究 2 年目の本年度は、国内膵島移植が再開されなかったため、① 米国 Clinical Islet Transplantation (CIT) Study として実施中のプロトコール（CIT-06 及び 07）のプライマリーエンドポ

イント（主要評価項目）を使った国内膵島移植症例（18 例）の評価を行った。

B. 研究方法

1. CIT-06&07 protocol

Clinical Islet Transplantation Study の HP (<http://www.isletstudy.org/>)上で公開されている Protocol の内容を用いた。

2. 国内膵島移植症例（18 症例）のデータ

膵・膵島移植研究会事務局がある福島県立医科大学外科学第一講座、後藤満一教授、斎藤拓朗博士よりご提供頂いた。

C. 研究結果

1. CIT 臨床試験のエンドポイント

①CIT-06

1 型糖尿病腎移植患者を対象とした、膵島移植と intensive insulin therapy (IIT) の比較試験。

Primary Endpoint (主要評価項目)

最初の移植から 1 年後の

- ・ HbA1c が 6.5%以下かつ severe hypoglycemic event が起きていない症例

あるいは

- ・ HbA1c の少なくとも 1 ポイントの減少かつ severe hypoglycemic event が起きていない症例の割合とされている

②CIT-07

1 型糖尿病患者（組入基準を満たすもの）を対象とした単群での試験

Primary Endpoint (主要評価項目)

最初の移植から 365 日後の HbA1c<7.0かつ 28 日後～365 日後の間 severe hypoglycemic event が起きていない症例の割合

2. 国内膵島移植症例 18 例の結果

18 例のうち移植回数が 1 回のみ：8 例、2 回 4 例、3 回 6 例であった。

①HbA1c

18 例中 14 例で初回移植 1 年後の HbA1c のデータ

があった。初回移植 1 年後の段階で移植回数が 1 回のみ 12/18 例（9/14 例）、2 回 4/18 例（3/14 例）、3 回 2/18 例（2/14 例）であった。

1) 1 年後 HbA1c<7.0であった症例：10/14 例

10 例の移植回数による内訳は、1 回 5/14 例、2 回 3/14 例、3 回 2/14 例であった。移植が 2 回以上実施された症例でデータがあるものは全て初回移植から 1 年後は HbA1c<7.0 となっていた。

2) 1 年後 HbA1c≤6.5%の症例：5/14 例

6 例の移植回数による内訳は、1 回 2/14 例、2 回 2/14 例、3 回 2/14 例であった。

3) 移植前の HbA1c の値：

1 回目の移植前の HbA1c 値は 17/18 症例でデータが得られている。その値は、<7.0：2/17 例、7.0-7.9：3/17 例、8.0-8.9：4/17 例、9.0-9.9：3/17 例、10.0 以上：5/17 例であった。

②severe hypoglycemic event

severe hypoglycemic event は、CIT-07 において以下の症状と定義されている。

Memory loss; confusion; uncontrollable behavior; irrational behavior; unusual difficulty in awakening; suspected seizure; seizure; loss of consciousness; or visual symptoms, in which the subject was unable to treat him/herself and which was associated with either a blood glucose level < 54mg/dL (3.0mmol/L) or prompt recovery after oral carbohydrate, IV glucose, or glucagon administration..

国内膵島移植症例ではプロスペクティブに低血糖発作は調べられていないため不明であった。

D. 考察

CIT-06 及び 07 で採用されている HbA1c 値及び severe hypoglycemic event 組合せの主要評価項目に関しては、国内移植実施例では低血糖発作に対する調査が行われていないため、国内症例の評価として適切であるのか十分な調査は出来なかった。

比較的データのそろっている HbA1c については、日本糖尿病学会のガイドラインの治療目標値（6.5%

未満)とされていることから、評価項目の1つとしては適切であると考え。しかし、膵・膵島移植研究会の定めた膵島移植適応基準において、HbA1c値が基準とされているわけではないことから、国内で移植適応基準を満たしている登録患者のHbA1c値データを検討した上で、評価項目として使うHbA1c値を定める必要がある。さらにHbA1c値は低血糖症状と合わせて評価することで、より臨床的に意義のある評価項目となることから、HbA1c値単独で主要評価項目を設定するのは望ましくないと考える。

低血糖発作はその程度や有無が患者のQOLにも大きく影響することから、今後実施される臨床研究においては、事前に調査すべき低血糖発作を定め、評価項目とするのが適切である。

E. 結論

これまでの膵島移植の評価は主に数値として測定可能な検査値に頼る傾向があったが、最近実施中の臨床試験においては、低血糖発作など患者の自覚症状に基づく評価が組み入れられるようになってきている。今後の臨床試験においては、事前に評価すべき低血糖発作等と定めて試験計画を作成するのが重要である。

F. 健康危険情報

特記すべき事項はなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし。

2. 学会発表

該当なし。

H. 知財財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 学会発表

該当なし。

3. その他

該当なし

分担研究報告書

探索医療の成果としての膵島移植医療の確立
膵島移植医療における Quality of Life に関する研究

分担研究者 畑中暢代 東京大学医科学研究所 先端医療社会コミュニケーションシステム 社会連携研究部門

研究要旨

膵島移植医療の対象である 1 型糖尿病患者の多くは、幼少期や青年期に発症し、血糖測定・血糖管理・インスリン管理などの治療をセルフケアとして、終世継続しながら学校生活や社会生活を送る。自分自身の健康に対する自己管理や自己責任（セルフメディケーション）を日々問われながら生活を送ることは、1 型糖尿病患者の人生に心理的負担を与える要因となり、またその負担は、患者の Quality of Life (以下 QOL) に強い影響を与えている。

膵島移植医療の目的は、救命ではなく QOL を改善させることである。つまり、移植膵島の機能が良好であっても、QOL の改善が得られず、患者が満足を得なければ意味がない。患者の QOL は、医療者が図るものではなく、患者自身が実感できるものでなければならない。患者自身の実感として評価される移植医療となるためには、患者の意見が医療提供の場に反映されなければならない。

膵島移植患者及び希望患者に対し、面接や電話・メールを利用し相談を受け付けてきた。この活動から探索的医療は、技術革新のみならず患者の精神的サポートや情報提供が重要であると前年度の報告書で発表した。

今年度は、前年度の調査をもとにアンケート用紙を作成し、1 型糖尿病患者を対象として、疾患や現在の治療そして移植医療に関する意向調査を行った。その結果、患者の医療に対する満足や移植に対する期待が明らかとなり、患者の精神的サポートの重要性など膵島移植医療の課題も明らかとなった。

分担協力者 山口拓洋 東京大学医学部付属病院 臨床試験データ管理学

研究協力者 瀧田盛仁 東京大学医科学研究所・Baylor All Saints Islet Cell Laboratory

研究協力者 松本慎一 Baylor All Saints Medical Center, Baylor All Saints Islet Cell Laboratory, Baylor Institute for Immunology Research, Islet Cell Transplantation Laboratory

する。

1. 患者の治療選択への期待と障害について

患者が移植医療に対して何を期待し、また何が障害になって移植医療を選択できないのか明らかにする。

2. QOL 向上への支援について

1 型糖尿病患者の QOL 向上を支援するために必要なアプローチを明らかにする。

A. 研究目的

1 型糖尿病患者を対象とし、疾患や治療・移植に関する意識調査を行い下記について明らかに

B. 研究方法

1. アンケート作成

2007年4月から2008年3月までに、膝島移植医療に関わる医療者（医師1名、看護師1名）は、1型糖尿病患者・家族・糖尿病内科医などから778件の相談を受けた。これらについてカテゴリー分けをし、既存の糖尿病の特異的QOL尺度を検索した。これらの作業の後、5段階のLikert型尺度を持つ、8分野合計50項目からなる最初のアンケート用紙を作成した。作成過程において糖尿病専門医及び統計家により、新規尺度の内容妥当性（content validity）を検討した。

予備調査として、8人の1型糖尿病患者が、この初期のアンケートに回答した。これらの回答者の意見をもとに、5項目をより適切な表現に変更し、アンケート用紙（資料1）が完成した。

2. アンケート実施

本調査は、2008年5月から2008年10月に開催された1型糖尿病患者会主催の勉強会に、5回参加した。勉強会の内容がアンケートへ影響することを避けるために、勉強会の開始前にアンケートを行った。計108名にアンケート用紙を配布し105名より回答を得た（回収率97%）。アンケート回答者は以下のとおりである。

男性35名、女性70名。平均年齢32.1歳（標準偏差15.1年、範囲=8-79歳）、発症年齢21.6歳（標準偏差15.7年、範囲3-63）、罹病期間9.7年（標準偏差8.4年、範囲0.3-37年）であった。自覚及び無自覚低血糖発作の平均回数はそれぞれ17.6回/月（標準偏差15.3、範囲0-100）、4.8回/年（標準偏差22.8、範囲0-120）である。小児の場合38名が家族による代筆、67名が自筆で回答した。（表1）

3. 統計的解析

統計学的解析はSAS Software（SAS Institute Inc, Cary, NC, USA）及びSPSS®15.0J（SPSS Inc, Chicago, IL, USA）を使用した。割合の検定は

Mantel-Haenszel カイ2乗検定を、2群間の平均値の差の検定は、T検定を行った。

アンケートの8分野からQOL向上の支援に関する6分野（「移植医療について」「免疫抑制剤について」2分野以外）の検討を行った。

Kaiser-Meyer-Olkinのサンプリング適切性基準値は、0.817であり、因子解析を適応するには十分高値であった。Bartlett's test of sphericity について、 χ^2 検値810.945、自由度253（ $P=0.000$ ）であり、これらは今回のデータが因子分析に適していることを意味する。サブスケールが適切に設定されるために因子解析を繰り返し、この作業にて2項目を削除した。因子解析では、主因子法およびプロマックス回転を用い、6つの潜在因子が抽出された（表3）6つの因子解析をすすめ、最終的に5つの因子をサブスケールとして取り扱った（表4）。

第1因子は、1型糖尿病に関連するストレスや不安にしているためgeneral stress /anxiety (GSA)と命名した。

第2因子は、サポート体制に関する項目で、support (SUP)と命名した。

第3因子は、自己管理に関する項目で、self care (SC)と命名した。

第4因子は、低血糖に関する項目のため、hypoglycemia (HYP)と命名した。

第5因子は、現在の状況に関する不満を示す項目であり、frustration (FRU)と命名した。

サブスケールの信頼性は、Cronbach's alpha coefficient にて判断し、GSA、SUP、HYPは0.7以上で、SCとFRUは0.59であった。

構成概念妥当性は、探索因子解析、multitrait scaling 分析、既知群間妥当性を利用して検証した。

C. 研究結果

1. 患者の治療選択への期待と障害について

患者の治療への期待や不安を明らかにするた

めに、アンケートの8分野からそれらに関連する「現在の治療について」「移植医療について」「免疫抑制剤について」の3分野から検討を行った。

各質問項目に対する回答の割合を図1に示す。8割以上の参加者がインスリン治療からの解放を願い、移植医療に対する興味や期待を有していた。9割以上の回答者が、移植に伴う費用や合併症、免疫抑制剤にかかる費用について問題視していた。

次に、患者がどのような背景で膵島移植を決断するかを理解するために、移植医療希望患者の背景を検討した。

「移植医療を受けたいと思う」と回答した被験者の属性を図2に示す。移植希望患者の罹病期間は 8.4 ± 8.2 年(平均 $\pm$ 標準偏差)であり、非希望患者は、 12.5 ± 8.2 年と罹患期間は希望患者が有意に短かった($P < 0.05$)。希望患者の低血糖回数は 13.7 ± 17.9 回/月、非希望患者は 9.1 ± 7.8 回/月であり、有意差はないものの希望者が多かった。低血糖の中でも無自覚性低血糖の回数は、希望患者は 12.0 ± 27.4 回/月、非希望患者は 2.2 ± 2.8 回で、希望患者が有意に多かった($P < 0.05$)。

また、移植希望患者の移植に対する期待を明らかにするために、移植希望患者が非希望患者に比べ、どのような意識が異なるかを検討した。その結果、表2に示す質問項目に関して、移植医療を受けたいと回答した被験者は、そうでない被験者に比べ有意に高い割合を示した。

2. QOL向上への支援について

1か月間の低血糖発作回数5回以上と5回未満を比較した場合、5回以上の群においてTotal、GSA、SUP、HYPで有意にQOLスコアが低かった(表5)。性別の比較では、SCのスコアの平均値が男性に比べ女性で有意に低かった。年齢では、40歳以上と40歳未満で比較した場合、Total、GSA、SUPのスコアは40歳以上の群で有意に低かった。

代筆群と自筆群を比較した場合、SUPのスコアは自筆群で有意に低かった。1型糖尿病の発症年齢を、20歳を基準に2群に分けた場合、FRUを除く全サブスケールで成人発症群のスコアは、小児発症群に比較して有意に低かった。発症期間について、3年以下の群と3年より長い群を比較した場合、3年未満の群のSUPを除く全サブスケールで有意にQOLスコアが低下した。

D. 考察

1. 患者の治療選択への期待と障害について

1型糖尿病患者は、必ずしも現在の治療に満足しているのではなく、インスリン治療からの解放を願う意見が大きいことが明らかとなった。本研究で特筆すべきことは、極めて高いアンケート回収率(97%)があげられる。しかも、ほとんどの回答者が全項目の質問に対し回答しており、1型糖尿病患者のこの研究に対する期待を実感できる結果となった。ただし、ほとんどの回答者が、移植医療に興味を示しているが、実際に移植医療を受けたいと望む患者は66%に止まった。この差異は、より多くの患者が移植医療を受け入れるには、まだいくつかの課題が残っていることを示唆している。ほとんどの回答者が、移植に伴う合併症や費用、免疫抑制剤の費用を問題視しており、今後これらの解決が重要である。

ただ、免疫抑制剤にかかる費用を知っていると回答した割合に対し、免疫抑制剤の維持費が大変であると回答した割合に差異があることから免疫抑制剤に対するマイナスなイメージを元に回答していることが示唆される。

また、膵島移植、膵臓移植および異種移植への期待は、移植医療を希望する群で有意に多い割合を占めた。ただし、この3種類の治療法を単にインスリン治療の代替えとして希望している可能性があり、それぞれの治療法の差異を正確に理解していないと考える。

移植医療の更なる拡大のためには、移植合併症、免疫抑制剤の副作用など医療技術の革新や経済的負担などの課題を克服すると共に、患者に対する適切な情報提供が重要である。

2. QOL 向上への支援について

低血糖発作の回数が多い場合、QOL が低下することはすでに知られている。既知群間比較の結果、低血糖発作の回数が多い群で、QOL スコアが低かったことは、本新規尺度の内容妥当性を裏付けた。低血糖の回数が多い群で、SUP のスコアが下がることから、低血糖発作の頻度が増えることは、患者本人だけではなくサポートする人への影響も大きいことが考えられた。

性別間、女性群で QOL スコアが低い傾向にあり、特に SC では有意に QOL スコアが、男性群と比較して低かった。これは、出産・育児などの相談が多いことから女性特有の事象と QOL が関連している可能性が考えられ、女性に対するケアが望まれる。

年齢に着目した場合、Total、GSA、SUP においては、40 歳より高齢な群でほとんどの QOL スコアが有意に低かった。また、発症年齢に関しても、成人発症群では、QOL が低い状態であることが明らかとなった。この結果は、一般に加齢とともに家族内や職場の役割に対する責任も重くなり、その責任が不安に強く影響していると考ええる。また、この結果は、従来 1 型糖尿病に関する QOL 研究の多くが、若年者に注目しているが、中高年齢者に対するアプローチも重要であることを示唆する。

自筆群と代筆群の比較では、自筆群の SUP で有意に低い結果になった。代筆は家族によって書かれており、家族より患者本人は、サポート体制について悲観的に感じていることが明らかとなった。このことから患者のサポートが楽観的に取り扱われる可能性があるため、精神的サ

ポートを継続的に行う必要がある。

罹病期間 3 年以下の群は、3 年以上の群と比較して、すべての QOL スコアが低かった。研究者は、いくつかの罹病期間（1 年、3 年、5 年、10 年を基準に 2 群間の平均スコアの差を検定）を設定し検討した（データ非公開）が、3 年を基準とした場合が、最も 2 群間の有意差が検出された。これは、病気や治療を受け入れるまで 3 年の年月が必要であると考えられる。

つまり、発症から 3 年間は、1 型糖尿病の受け入れが難しく、この期間の精神的サポートは必要と考えられた。

E. 結論

本研究において、1 型糖尿病患者は、移植医療に興味と期待を示したが、移植に伴う合併症や経済的負担を課題として捉えていることが明らかになった。一方で、移植医療に対する正確な知識が不足している状況で、患者は移植に対するイメージで判断している可能性もあり、今後移植医療に関する適切な情報提供が必要である。

また、女性特有の問題への対応、中高年齢患者や成人発症患者、罹病期間が短い患者に対する精神的サポートは本研究でその重要性が明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 畑中暢代, 松本慎一, 膝島移植医療の現状 血液フロンティア 2008 ; 18 : 39-45
- 2) 松本慎一, 畑中暢代, 再生医療：臨床応用が進む細胞治療、膝島移植 クリニカルエンジニアリング (in Press)
- 3) Liu X, Matsumoto S, Okitsu T, Hatanaka N, et al. Analysis of donor- and isolation-related

variables from non-heart-beating donors (NHBDs) using the Kyoto islet isolation method. *Cell Transplant* 2008;17:649-656

4) Matsumoto S, Noguchi H, Hatanaka N, Kobayashi N, Jackson A, Naziruddin B, Levy MF. Evaluation of engraftment after single islet transplantation from a brain-dead donor by the secretory unit of islet transplant objects (SUITO) index. *Transplant Proc.* 2008 Mar;40(2):364-6

5) Matsumoto S, Noguchi H, Hatanaka N, Kobayashi N, Jackson A, Naziruddin B, Levy MF. Estimation of donor usability for islet isolation with the modified Ricordi method. *Transplant Proc.* 2008 Mar;40(2):362-3.

6) Matsumoto S, Noguchi H, Hatanaka N, Shimoda M, Kobayashi N, Jackson A, Onaca N, Naziruddin B, Levy M. Estimation of Donor Usability for Islet Transplantation in the United States with the Kyoto Islet Isolation Method. *Cell Transplant* (in press)

7) Matsumoto S, Noguchi H, Hatanaka N, Shimoda M, Kobayashi N, Jackson A, Onaca

N, Naziruddin B, Levy M. SUITO index for evaluation of efficacy of single donor islet transplantation. *Cell Transplant* (in press)

8) Matsumoto S, Hatanaka N.

Islet transplantation from live related donor.

Islet Transplantation: Biology, Immunology, and Clinical Applications, (in press)

2. 学会発表

1) 畑中暢代. 1型糖尿病患者にとっての移植医療 2008年5月16日第108回日本外科学会定期学術集会 (パネルディスカッション発表)

H. 知財財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

表 1. アンケート参加者の基本属性

		n	(%)
性別	男性	35	(33.3)
	女性	70	(66.7)
年齢 (歳)	0-19	26	(24.8)
	20-39	40	(38.1)
	40-59	30	(28.6)
	≥60	5	(4.8)
回答方法	自筆	67	(63.8)
	代筆	38	(36.2)
発症年齢 (歳)	≤19	57	(54.3)
	≥20	41	(39.0)
罹病期間 (年)	<10	58	(55.2)
	≥10	44	(41.9)

表 2. 移植医療に関する患者の期待に関連する質問項目
質問項目と有意確率(P)を示す。

質問項目	移植医療		P
	希望者	非希望者	
1. 現在の治療について			
②インスリン療法から解放されたい	62 (91.2%)	26 (74.3%)	<0.05
③インスリン療法に代わる治療は移植だと思う	58 (89.2%)	16 (47.1%)	<0.01
④インスリン療法から離脱できと思う	44 (66.7%)	9 (26.5%)	<0.01
2. 移植医療について			
③移植医療への期待は高い	66 (97.1%)	23 (65.7%)	<0.01
④膵島移植は効果がらと思う	65 (97.0%)	24 (70.6%)	<0.01
⑤膵臓移植は効果がらと思う	60 (92.3%)	22 (62.9%)	<0.01
⑧1型糖尿病に効果があるなら、ブタの細胞を使用した製剤でも使用したいと思う	48 (75.0%)	15 (42.9%)	<0.01

図 1. 質問項目と回答の比率 (%)

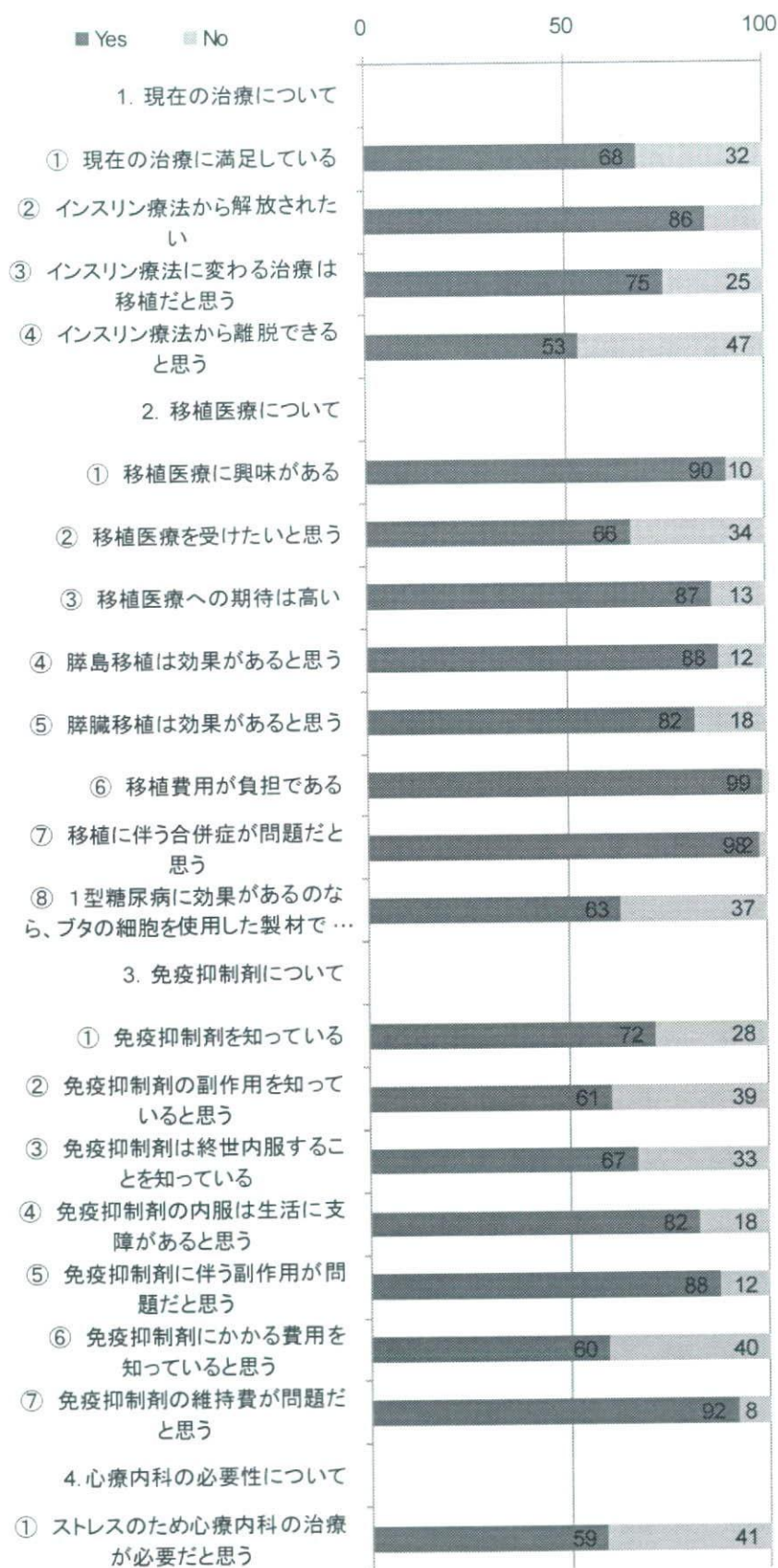
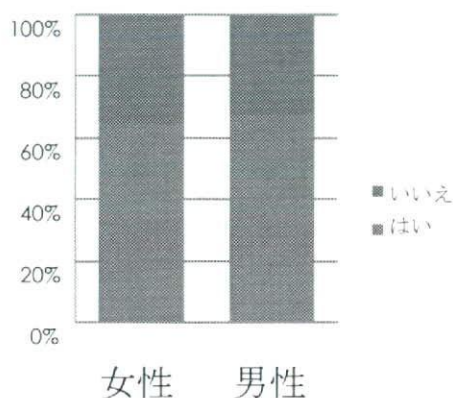


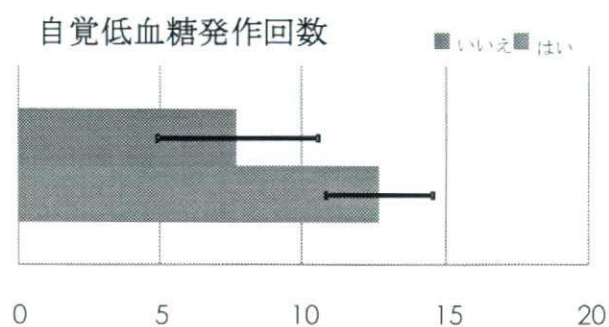
図 2. 移植医療を受けたいと思っている被験者の属性

(A) 性別、(B) 発症年齢、(C) 罹病期間、(D) 1 ヶ月当たりの自覚低血糖発作回数、(E) 1 年の無自覚低血糖発作回数。(C) 罹病期間及び (E) 無自覚低血糖発作回数について、移植医療を受けたいと思う被験者とそうでないと回答した被験者の間で有意差を認めた。

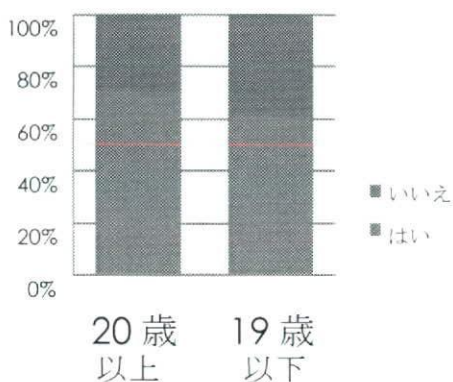
(A)



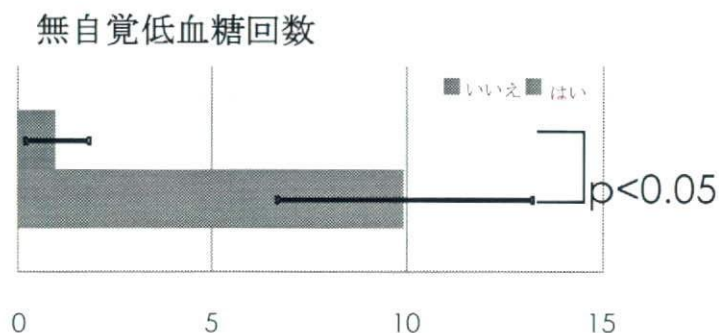
(D)



(B)



(E)



(C)

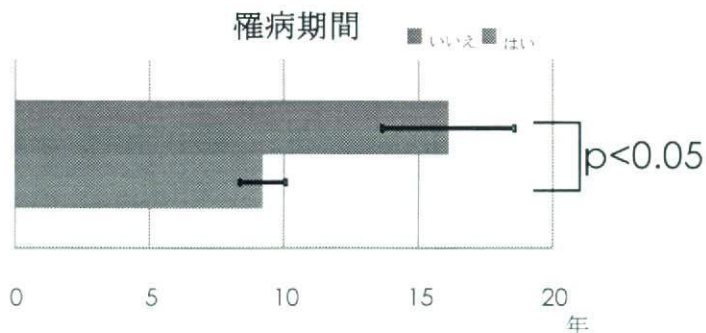


表 3. Factor Analysis and Cronbach's alpha

No.	Item Abbreviated Content	Factor 1	2	3	4	5	6
1	Stresses of T1D	0.78	0.38	0.33	0.41	0.59	0.65
2	Effects on businesses or school lives	0.78	0.25	0.33	0.64	0.30	0.42
3	Harmful T1D	0.76	0.25	0.24	0.27	0.39	0.38
4	Dissatisfaction with insulin therapy	0.74	0.15	0.06	0.12	0.22	0.27
5	Anxiety about hypoglycemia	0.68	0.25	0.35	0.24	0.46	0.26
6	Effects on normal lives	0.68	0.34	0.45	0.51	0.43	0.51
7	Psychological burden to family	0.53	0.21	0.46	0.47	0.15	0.13
8	Anxiety about complications	0.50	0.17	0.40	0.43	0.43	0.40
9	Supprot of healthcare provider	0.33	0.82	0.13	0.20	0.33	0.24
10	Understander	0.25	0.78	0.37	0.13	0.06	0.20
11	Supprot of family	0.01	0.69	0.39	0.32	0.19	0.34
12	Saticfaction with current treatment	0.47	0.48	0.19	0.18	0.46	0.26
13	Trip	0.32	0.30	0.72	0.34	0.36	0.27
14	Stress relief	0.26	0.23	0.71	0.09	0.11	0.26
15	Prevention of complications	0.16	0.30	0.63	0.48	0.36	0.21
16	Existence of complications	0.10	0.10	0.25	0.75	0.21	0.08
17	Abadonment of goals	0.59	0.17	0.08	0.70	0.22	0.46
18	Insomnia due to hypoglycemia	0.40	0.31	0.20	0.65	0.55	0.30
19	Instability of glycemic control	0.38	0.13	0.24	0.30	0.84	0.16
20	Limitaion due to hypoglycemia	0.48	0.37	0.33	0.47	0.75	0.48
21	Misunderstanding about T1D and T2D	0.31	0.13	0.26	0.24	0.19	0.83
22	Inappropriate name for T1D	0.46	0.19	0.43	0.28	0.00	0.66
23	Distress in insulin therapy	0.24	0.43	-0.01	0.08	0.28	0.63
Eigen Value		7.18	1.84	1.58	1.29	1.15	1.05
Cronbach's alpha		0.87	0.70	0.59	0.51	0.71	0.59

表 4. Correlation between the items and subscales (Corrected for overlap)

No.	Item Abbreviated Content	GSA	SUP	SC	HYP	FRU
1	Stresses of T1D	0.75	0.28	0.40	0.60	0.56
2	Effects on businesses or school lives	0.71	0.22	0.30	0.50	0.38
3	Harmful T1D	0.65	0.18	0.32	0.39	0.36
4	Dissatisfaction with insulin therapy	0.57	0.07	0.16	0.27	0.27
5	Anxiety about hypoglycemia	0.61	0.23	0.25	0.48	0.29
6	Effects on normal lives	0.68	0.32	0.45	0.54	0.42
7	Psychological burden to family	0.44	0.16	0.38	0.32	0.19
8	Anxiety about complications	0.52	0.20	0.34	0.46	0.27
9	Supprot of healthcare provider	0.33	0.47	0.27	0.27	0.21
10	Understander	0.28	0.60	0.28	0.11	0.22
11	Supprot of family	0.15	0.49	0.36	0.21	0.26
13	Trip	0.39	0.31	0.48	0.44	0.28
14	Stress relief	0.29	0.27	0.37	0.18	0.28
15	Prevention of complications	0.32	0.29	0.35	0.35	0.17
18	Insomnia due to hypoglycemia	0.46	0.21	0.33	0.49	0.17
19	Instability of glycemic control	0.45	0.11	0.30	0.49	0.11
20	Limitaion due to hypoglycemia	0.57	0.30	0.39	0.59	0.40
21	Misunderstanding about T1D and T2D	0.35	0.15	0.26	0.22	0.50
22	Inappropriate name for T1D	0.42	0.19	0.35	0.19	0.40
23	Distress in insulin therapy	0.28	0.28	0.14	0.24	0.31

表 5. Known Groups Comparisons

		Total		GSA		SUP		SC		HYP		FRU	
Sex	Female	44.93 (14.64)		29.01 (19.17)		68.63 (22.72)		52.56 (19.83)		47.98 (24.70)		27.38 (22.17)	
	male	51.02 (17.27)		32.08 (24.26)		70.34 (21.44)		65.36 (17.64)		55.15 (24.25)		33.69 (25.65)	
P-value		0.06		0.48		0.72		<0.01		0.17		0.20	
Age	0-19	49.45 (16.28)		35.89 (20.40)		68.00 (20.51)		58.81 (19.16)		57.85 (21.58)		28.53 (24.63)	
	20-39	49.31 (17.36)		32.25 (22.02)		75.42 (21.68)		57.29 (23.73)		49.27 (28.34)		32.29 (22.18)	
	40-59	42.63 (13.93)		23.66 (18.44)		60.42 (23.20)		55.97 (15.54)		48.85 (21.79)		25.69 (24.66)	
	≥60	42.31 (10.65)		18.21 (20.10)		68.33 (19.90)		46.67 (20.92)		35.00 (16.03)		43.33 (24.58)	
P-value		0.25		0.07		0.05*		0.66		0.21		0.38	
Age	<40	49.36 (16.81)		33.69 (21.31)		72.56 (21.38)		57.89 (21.90)		52.65 (26.05)		30.81 (23.06)	
	≥40	42.58 (13.38)		22.88 (18.47)		61.62 (22.62)		54.64 (16.38)		46.81 (21.42)		28.21 (25.08)	
P-value		0.04		0.01		0.02		0.44		0.26		0.60	
Age	<20	49.45 (16.28)		35.89 (20.40)		68.00 (20.51)		58.81 (19.16)		57.85 (21.58)		28.53 (24.63)	
	≥20	46.17 (15.89)		27.88 (20.84)		69.18 (23.02)		56.06 (20.54)		48.14 (25.26)		30.39 (23.51)	
P-value		0.36		0.09		0.82		0.55		0.08		0.73	
Responder	Autograph	46.13 (16.51)		30.11 (21.71)		65.77 (23.58)		54.73 (19.42)		48.01 (24.79)		32.71 (24.11)	
	Allograph	48.43 (14.41)		29.89 (19.78)		75.23 (18.37)		60.53 (20.68)		54.50 (24.22)		23.79 (21.38)	
P-value		0.48		0.96		0.04		0.15		0.20		0.06	
Onset	Adult	39.46 (12.82)		22.05 (17.43)		62.82 (23.01)		48.37 (18.37)		39.84 (21.12)		25.20 (24.12)	
	Child	52.58 (16.24)		36.44 (21.52)		72.62 (21.60)		62.50 (19.89)		58.63 (24.42)		33.63 (23.46)	
P-value		<0.01		<0.01		0.04		<0.01		<0.01		0.09	
Duration	≤3	39.33 (11.68)		21.84 (18.36)		65.48 (22.65)		50.27 (14.98)		40.99 (23.52)		20.97 (23.85)	
	>3	50.40 (16.48)		34.27 (21.16)		70.31 (22.44)		59.45 (21.66)		54.52 (24.44)		33.45 (22.82)	
P-value		<0.01		<0.01		0.34		0.03		0.01		0.01	
Duration	>10	52.14 (17.88)		33.53 (22.86)		72.73 (23.53)		61.17 (22.87)		56.53 (24.45)		36.74 (23.66)	
	<10	43.16 (13.23)		28.19 (19.47)		65.91 (21.35)		53.23 (17.44)		45.76 (24.33)		24.28 (22.53)	
P-value		<0.01		0.21		0.14		0.05		0.03		0.01	
Hypoglycemic attack	≥5/month	43.81 (15.51)		27.70 (20.19)		65.35 (21.92)		54.89 (18.80)		43.39 (23.23)		28.30 (23.67)	
	<5/month	53.16 (15.91)		38.01 (24.15)		76.09 (20.61)		59.38 (19.71)		65.10 (22.48)		29.51 (25.06)	
P-value		<0.05		0.05		<0.05		0.33		<0.01		0.84	

* There is a significant difference between 20-40 vs. 40-60

付表 1. 作成アンケート用紙

[illegible]

膵消化酵素 Liberase HI における牛由来プリオンのバイオアッセイ

毛利 資郎 (動物衛生研究所 プリオン病研究センター)

研究要旨：膵島分離に用いられた Liberase HI にプリオンが混入しているか否かを検討するために、同一ロットの Liberase HI についてプリオンノックインマウスを用いたプリオンアッセイを行った。強力な酵素活性を有した Liberase HI のバイオアッセイについては直接動物に接種できないことから、数回の予備試験を行い、接種試料の調整を行った。現在、動物を観察中であり、結果が出次第報告予定である。

A. 研究目的

糖尿病治療のための膵島移植においては、提供された膵臓から消化酵素を用いて膵島を分離することが不可欠である。これまでに実施された臨床膵島移植における膵島分離の際には消化酵素剤 Liberase HI が用いられてきた。ところが Liberase HI の製造工程において、ウシ脳の抽出物が用いられていたことが判明した。膵島分離に用いられた Liberase HI に BSE プリオンが混入しているか否かを検討し、安全性を評価するために、膵消化酵素剤 Liberase HI に BSE プリオンが含まれているか否かについて、BSE プリオンのバイオアッセイにより膵島移植の安全性を確立する。

B. 研究方法

1) モデルマウス

マウス野生型プリオン蛋白質遺伝子を相同組み替えによりウシ型プリオン蛋白質遺伝子マウスに組み替えた遺伝子改変マウスに、BSE プリオンに対する感度を上げるためにウシ型トランスジェニックマウスを交配したダブルミュータントマ

ウス (KiTg-Bo#40) で、BSE プリオンに高感受性を有する。

2) 被検試料

Liberase HI (0.5g/vial) lotNo.: 93237620, 93410261 を使用。

3) 方法

・ 予備試験

Liberase HI は強力な消化酵素であることからそのままマウスに投与することは、不可能であると考えられた。そこで、予備試験として Liberase HI の酵素活性とマウスに対する影響を調べるために、BSE にあまり影響を与えない 100℃以下の温度による酵素の失活を行いマウスへ接種し、マウスに対する影響を調べた。

・ バイオアッセイ

予備実験の結果を踏まえて 100℃10 分間熱処理した Liberase HI を 5mg/50 μ l、10mg/100 μ l、50mg/500 μ l をそれぞれ、10 頭のマウスの腹腔内に接種した。

4) 評価

接種したマウスは接種後 75 日以降に

安楽死させ、脾臓を採取し、半分を凍結保存する。残りは10%緩衝ホルマリン溶液で固定後病理組織切片を作製し、免疫組織染色により、脾臓の濾胞樹状細胞における異常プリオン蛋白質の蓄積を調べる。凍結保存材料はウエスタンブロッティングを行い異常プリオン蛋白質の検出を行う。

C. 研究結果

1) 予備試験

Liberase HI を 5mg/50 μ l に希釈して接種後、20 秒以内に全個体死亡した。

60℃、10 分間加熱処理後の Liberase HI では投与後、直ちに無動となり 30 分以内に振せんが認められたので全頭安楽死させた。80℃、10 分間加熱処理後は 1/4 の生存率であった。100℃、10 分間加熱処理では何の症状もなく 11 日間観察を行ったが全頭生存した。従って、本試験では 100℃、10 分間熱処理を行い Liberase HI を失活させた後、マウスに接種することにした。

2) 接種試験

Liberase HI の 5mg/50 μ l、10mg/100 μ l、50mg/500 μ l をそれぞれ 10 頭のマウスの腹腔内に接種し、現在観察中である。

D. 考察

BSE プリオンを効果的に検出するためには希釈はできるだけ避ける方が良いことが、こ

れまでの成績から判っている。しかしながら Liberase HI には強力な酵素活性があるためにマウスが生存可能なレベルにまで酵素を失活させる必要があった。脳内接種ではさらなる酵素失活処置もしくは Liberase HI の希釈が必要となり、プリオンに対する不活化作用が大きくなることも考えられた。バイオアッセイに用いているウシ型プリオン蛋白質遺伝子改変マウス KiTg-Bo#40 はダブルミュータントマウスであり BSE プリオンに対して腹腔内接種と同じレベルの感受性であることから、接種方法を腹腔内接種に切り替え観察中である。

結果が得られて、解析が終わり次第「豚消化酵素 Liberase HI における牛由来プリオンのバイオアッセイ」の報告書を作成する。

E. 備考

進行中のバイオアッセイの検出レベルは BSE プリオン感染ウシ脳の 10^4 レベルである。しかし、実験中に Liberase HI の酵素活性が予想以上に高いことから Liberase HI そのものによる BSE プリオンの不活化も考えられる。もし、そうであれば Liberase HI に BSE プリオンを添加してスパイク試験を行い、定量的にプリオンの減衰を測定することにより高いレベルで、Liberase HI におけるプリオンの安全性について検証できる。より高いレベルでの安全性検証のために、追加試験を行う予定である。

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表