

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
寺岡 慧	12 章 II 合併症 iii 非免疫学的膵 傷害	伊藤壽記・寺岡 慧	膵臓移植:糖尿 病根治を目指し て	シュプリンガー・ ジャパン	東京	2009	201-214
寺岡 慧	13 章 膵臓移植 における免疫抑制 法	伊藤壽記・寺岡 慧	膵臓移植:糖尿 病根治を目指し て	シュプリンガー・ ジャパン	東京	2009	225-256
伊藤壽記, 寺岡 慧	24 章 移植膵の 長期予後	伊藤壽記・寺岡 慧	膵臓移植:糖尿 病根治を目指し て	シュプリンガー・ ジャパン	東京	2009	371-377
寺岡 慧	膵臓移植と膵島移 植	炭山嘉伸・門田守人・跡 見 裕	消化器外科学 レビュー2009	総合医学社	東京	2009	159-165
剣持 敬	19 章 生体膵臓 移植	伊藤壽記・寺岡 慧	膵臓移植 糖尿 病根治を目指し て	シュプリンガー・ ジャパン	東京	2009 年	295-306
剣持 敬	膵・膵島移植	池田宇一, 大越教夫, 横 田千津子	病気と薬パーフ ェクト BOOK2008.	南山堂	東京	2008 年	1596-1598
伊藤壽記	18 章「膵臓移植に おける免疫学」	寺岡慧,伊藤壽記	膵臓移植 糖尿 病根治を目指し て	シュプリンガー・ ジャパン	東京	2009	287-294
斎藤拓朗, 後藤満一	28章 膵島移植	伊藤壽記・寺岡 慧	膵臓移植:糖尿 病根治を目指し て	シュプリンガー・ ジャパン	東京	2009	411-422
岩永康裕	28 章 膵島移植 の現況	田畑泰彦	遺伝子医学 MOOK 別冊 「進みつづける 細胞移植治療 の実際」(下巻)	株式会社メディ カルドゥ	大阪	2008	147-151

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出 版年
寺岡 慧	糖尿病の移植再生に関する新たなる展開 膵臓移植の現 況と課題	プラクティス	別冊	113-119	2008
中島一郎, 寺岡 慧	マージナルドナーからの膵臓移植	Organ Biology	15(2)	129-138	2008

<u>Kenmochi T, Asano T, Miyazaki M, et al.</u>	Cryopreservation of Human Pancreatic Islets from Non-heart Beating Donors using Hydroxyethyl Starch and Dimethyl Sulfoxide as Cryoprotectants.	Cell Transplant	17	61-67	2008
<u>Kenmochi T, Saigo K, Miyazaki M, et al</u>	Results of kidney transplantation from ABO-incompatible living donors in a single institution.	Transplant Proc	40	2289-2291	2008
Lee JI, Nishimura R, <u>Kenmochi T, et al.</u>	A newly developed immunoisolated bioartificial pancreas with cell sheet engineering.	Cell Transplant	17	51-59	2008
Tanemura M, Kawamoto K, Mori M, <u>Ito T, et al.</u>	Rapamycin induces autophagy in islets: Relevance for islets transplantation.	Transplantation Proceedings.	41	334-338	2009
Tanemura M, Kawamoto K, <u>Ito T, et al.</u>	Adenovirus-mediated gene expression of human c-FLIP _L protects pig islets against human CD8 ⁺ CTL-mediated cytotoxicity.	Transplantation Proceedings.	41	319-322	2009
Tanemura M, Kawamoto K, <u>Ito T, et al.</u>	Intracellular and Extracellular Remodeling Effectively Prevents Human CD8 ⁺ Cytotoxic T Lymphocyte-Mediated Xenocytotoxicity by Coexpression of Membrane-Bound Human FasL and Pig c-FLIPL in Pig Endothelial Cells	Transplantation Proceedings.	41	391-394	2009
Kawamoto K, Tanemura M, <u>Ito T, Doki Y, Mori M, Sawa Y, et al.</u>	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
K. Kawamoto, M. Tanemura, Y. Sawa, Y. Doki, M. Mori, <u>T. Ito, et al.</u>	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
Takahashi H, Goto M, <u>Satomi S, et al.</u>	Superiority of fresh islets compared with cultured islets	Transplantation Proceedings.	41 (1)	350-351	2009
Goto M, Abe H, <u>Satomi S, et al.</u>	A novel predictive method for assessing the quality of isolated pancreatic islets using a scanning electrochemical microscopy	Transplantation Proceedings.	<u>41 (1)</u>	311-313	2009
Tokodai K, <u>Goto M, Satomi S, et al.</u>	C5a inhibitory peptide combined with gabexate mesilate is a clinically available candidate for preventing the instant blood-mediated inflammatory reaction	Transplantation Proceedings.	41 (1)	67-68	2009
Saito Y, Goto M, <u>Satomi S, et al.</u>	The influence of brain death on tissue factor expression in the pancreatic tissues and isolated islets in rats	Transplantation Proceedings.	41 (1)	307-310	2009
<u>Goto M, Tjernberg J, Nilsson B, et al.</u>	Dissecting the instant blood-mediated inflammatory reaction in islet xenotransplantation	Xenotransplantation	15(4)	225-234	2008
<u>Goto M, Yoshikawa Y, Satomi S, et al.</u>	Optimization of a Prominent Oxygen-Permeable Device for Pancreatic Islets	Transplantation Proceedings.	40(2)	411-412	2008
Takahashi H, <u>Goto M, Satomi S, et al.</u>	Influence of a current style of culture on the quality of isolated pancreatic islets	Transplantation Proceedings.	40(2)	358-359	2008

膵・膵島移植研究会	膵島移植班膵島移植症例登録報告 (2008)	移植	43 (6)	482-485	2008
Gunji T, Saito T, Goto M. et al.	Mitomycin-C treatment followed by culture produces long-term survival of islet xenografts in rat to mouse model.	Cell Transplant	17 (6)	619-629	2008
Iwanaga Y, Sutherland D.E.R., Papadimitrakou F, Harmon J.V.	Pancreas Preservation for Pancreas and Islet Transplantation	Current Opinion in Organ Transplantation	4	445-451	2008
岩永康裕、上本伸二	糖尿病に対する外科的治療法 —膵臓移植と膵島移植—	糖尿病の療養指導	第 42 集	152-156	2008
岩永康裕、興津輝、 米川幸秀、川口義 弥、上本伸二	心停止ドナー膵島移植	Organ Biology	15	349-356	2008

IV. 研究成果の刊行物・別冊

II 合併症

iii 非免疫学的膵傷害

1 はじめに

膵臓移植後の膵傷害は、虚血再灌流傷害、膵血管内血栓症、移植膵膵炎（虚血性、逆流性、薬剤性、ウイルス性など）、薬剤性膵島機能障害などの非免疫学的傷害と、急性拒絶反応、慢性拒絶反応などの免疫学的傷害とに大別される。新しい免疫抑制剤の導入と免疫抑制法の進歩により移植膵の immunological loss（拒絶反応による機能廃絶）は1～2%とされており、膵臓移植後の成績に最も大きく影響する因子としては非免疫学的傷害、特に移植膵の血栓症と薬剤性膵島機能障害であろう。本項では膵臓移植後の非免疫学的傷害について概説する。

2 虚血再灌流傷害

2.1 膵臓の虚血傷害

a. 実験的阻血傷害

膵臓の *in situ* 阻血実験によれば、膵臓は1時間の血行遮断に耐え得ると報告されている。1時間の阻血後でも外分泌腺の形態および機能は維持され、さらに内分泌機能も保持されるとされている^[1, 2]。1時間阻血では血流再開後、インスリンおよびグルカゴン分泌能は維持され、血糖も正常レベルに維持されるが、2～3時間阻血では血流再開後グルカゴン分泌は上昇するがインスリン分泌が上昇しないため血糖は上昇する(図12.8)^[3]。また1時間阻血では、血流再開後のIV-GTTにおけるインスリンは基礎分泌、追加分泌とも維持されている^[3, 4]。2～3時間阻血ではインスリン基礎分泌は抑制され、追加分泌はほぼ消失するとされている(図12.9)^[3, 4]。

³¹P-NMRを用いた虚血膵の検討では、1時間の温阻血では無機リンピークの増大、細胞内アシドーシスを反映する化学シフト、およびATP量を意味する β -ATPの消失が認められるが、血流再開後1時間無機リンピークとその化学シフトは改善し、 β -ATPは回復する。しかし2時間以上の温阻

血では無機リンピークの増大と化学シフト、および β -ATPの消失は改善しない(図12.10)^[5]。ATPと無機リンの比(β -ATP/Pi)は phosphorylation ratio と呼ばれ細胞内のリン酸化率を示すとされ、1時間温阻血では阻血解除後 β -ATP/Pi比は徐々に回復するが、2時間以上の温阻血では血流再開後も回復しない(図12.11)^[5]。

またイヌ膵臓移植における実験的検討では、移植膵に浮腫をきたし、移植膵重量が増加することが示されている。おそらく保存中の Na^+/K^+ -ATPase活

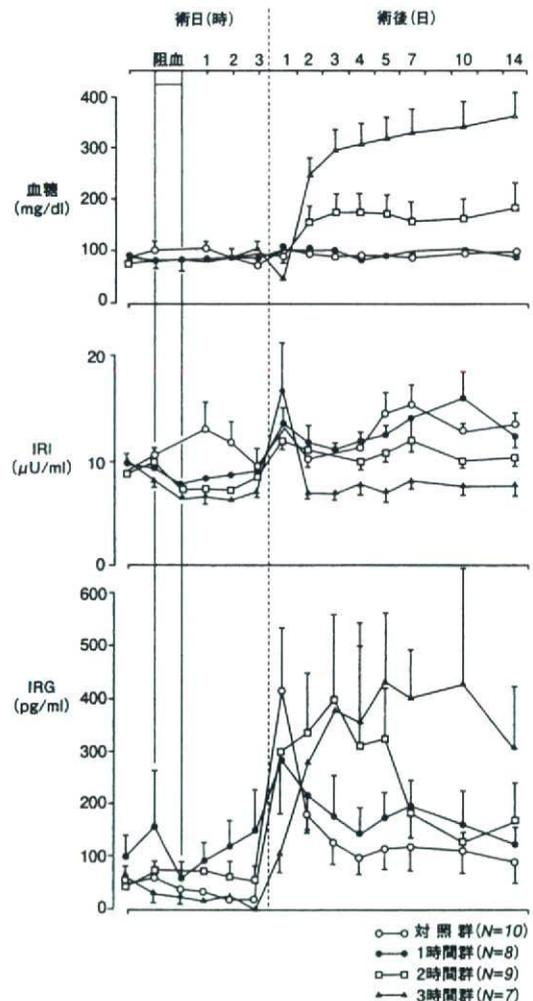


図12.8 温阻血後における血中グルコース(上)、インスリン(中)、グルカゴン(下)の推移。* : $p < 0.05$ (vs. 対照群), # : $p < 0.05$ (vs. 1時間温阻血群), b : $p < 0.05$ (vs. 2時間温阻血群)。

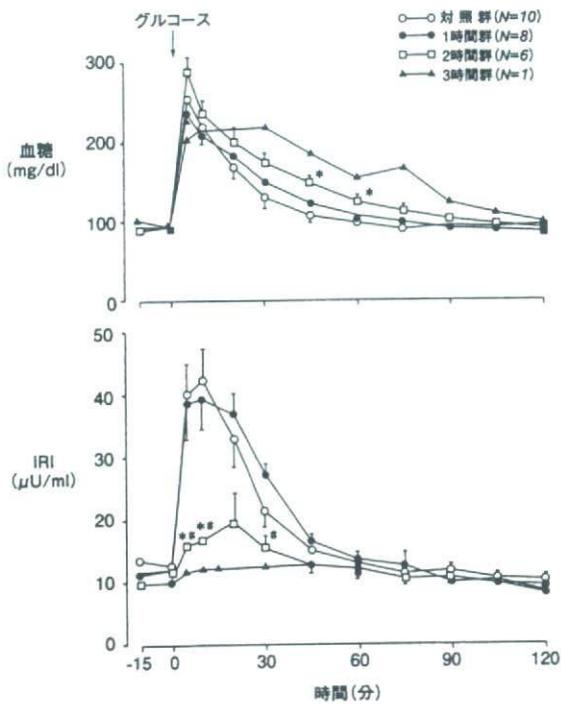


図 12.9 温阻血後におけるIV-GTTにおける血中グルコース(上), インスリン(下)の推移。*: $p < 0.05$ (vs. 対照群), #: $p < 0.05$ (vs. 1時間温阻血群)。

性の低下, さらに再灌流時に血管内皮細胞が傷害され, 血管の透過性が亢進して移植臓の浮腫をきたしたものと推定される。さらに血流再開後脾静脈血におけるTXB₂が増加し, 6-keto-PGF_{1α}が減少すると報告されており, これは脾静脈血中のTXA₂/PGI₂比が上昇することを示している^[6]。保存中の内皮細胞の虚血傷害, 再灌流時の内皮傷害とそれによる血小板活性化がTXA₂の放出とPGI₂の産生低下に関与しているものと考えられる。

b. 臨床的検討

心停止ドナーからの臓器移植の検討では, 温阻血30分以上で, 血流再開後1時間の移植臓生検において高度の赤血球の連鎖形成(rouleau formation)が認められ, すでに毛細血管レベルでは血流障害が認められている(図12.12)^[7]。この症例では移植後7時間で移植臓血管の血栓形成に至り, 移植臓を

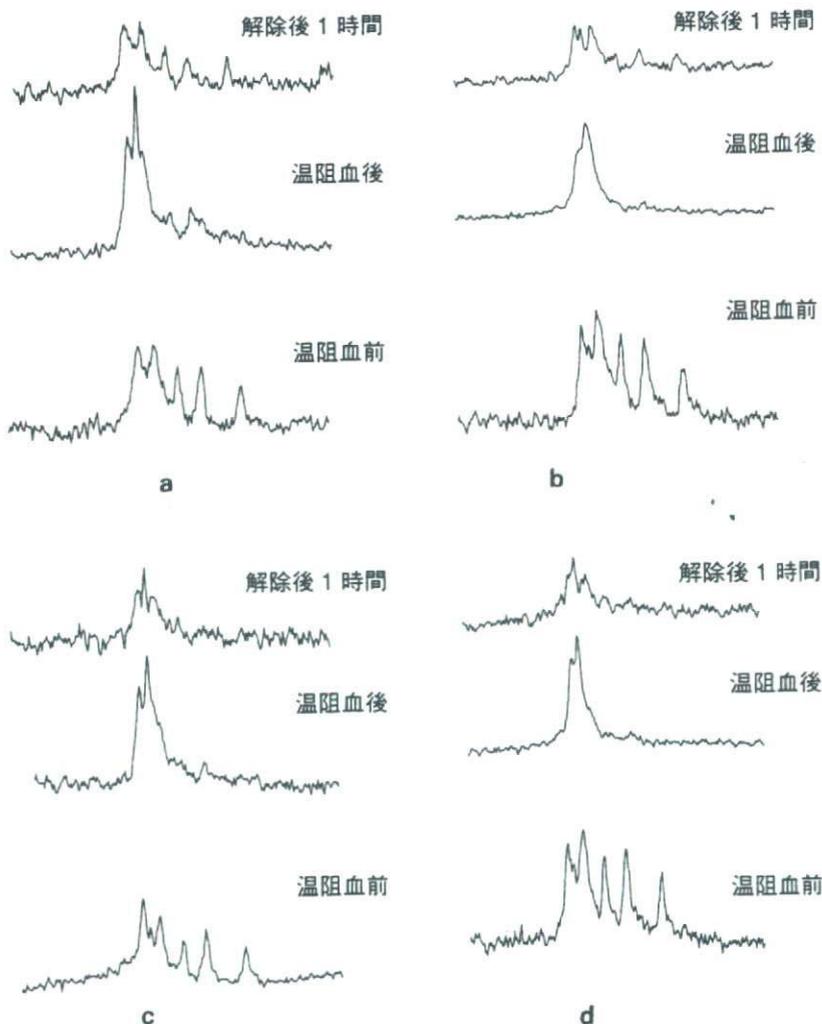


図 12.10 温阻血後および血流再開後1時間における³¹P-NMRスペクトル。上段左:1時間阻血(a), 右:2時間阻血(b), 下段左:3時間阻血(c), 右:4時間阻血(d)。温阻血後β-ATPは消失し, 血流再開後1時間でa群, b群では回復するが, c群, d群では回復しない。回復率はa群で最も高い。

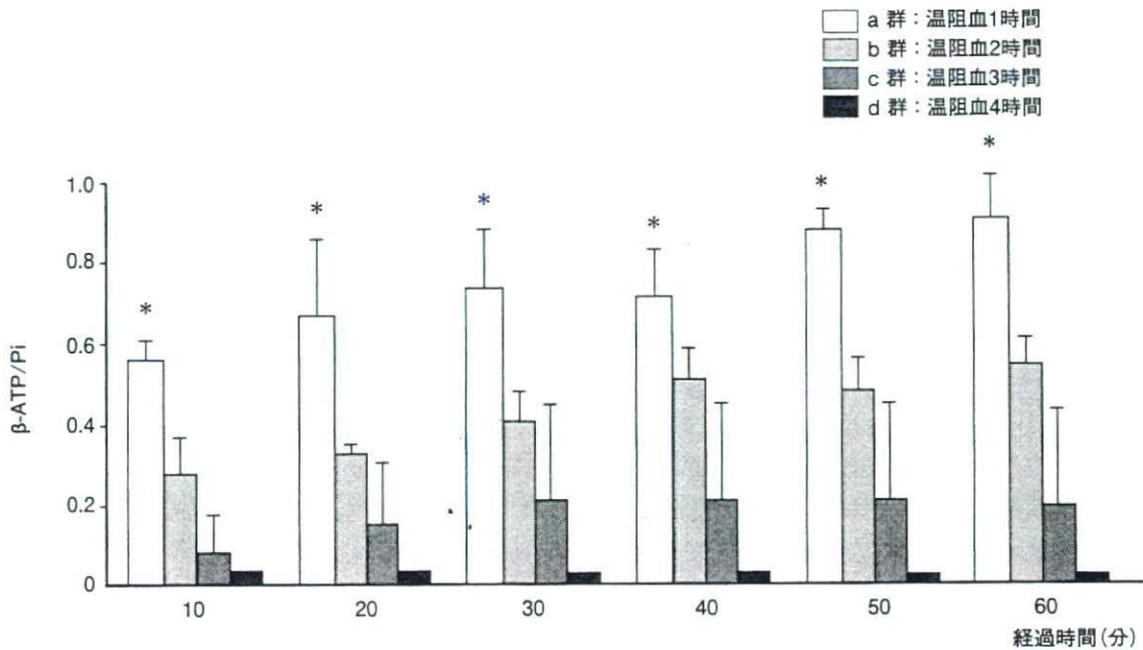


図 12.11 各群における温阻血解除後の β -ATP/Pi 比の変化. 横軸は温阻血解除後の経過時間を示す. a 群 (温阻血 1 時間) は他の群に対し有意に高値 (* : $p < 0.05$). 温阻血時間の延長に伴い β -ATP/Pi 比の回復率は低下した.

摘出した. この事実は移植臓血栓形成の機序として, 毛細血管レベルにおける赤血球連鎖形成から微小血栓形成が先行し, 次第に血流障害に陥って最終的に移植臓血栓形成に至る可能性を示唆している [7].

また腺房細胞の膨化と毛細血管内腔の狭小化, 内皮細胞の腫大, 好中球の内皮細胞への接着と毛細血管の閉塞などが認められる. これらは毛細血管レベルにおける血流障害の発生機序に, 虚血による腺房細胞の腫大と毛細血管の狭小化, 内皮細胞の活性化/傷害と好中球の接着なども関与している可能性を示唆していると言えよう.

2.2 虚血再灌流傷害

血流再開後, 局所に遊走した好中球は L-selectin を発現し, 血管内皮上に発現した P-selectin, E-selectin を介して内皮表面上でローリング (rolling) 現象を起こし, ついで好中球は膜表面に Mac-1, LFA-1 を発現し, 内皮上に発現した ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 を介して内皮に接着, さらに血管外に遊走する (組織浸潤) [8]. 内皮細胞に接着した好中球はエラスターゼなどのプロテアーゼを放出し, 直接内皮を傷害する. 同時に好中球により産生されるスーパーオキシド (O_2^{\cdot}) は血管内皮で産生された一酸化窒素 (NO) と反応して, ペルオキ

シニトライト ($ONOO^{\cdot}$) が産生される. $ONOO^{\cdot}$ は H^+ と反応して, ヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) と NO_2 を産生する (図 12.13) [9]. これらの活性酸素種 (ROS) は内皮細胞を強く傷害する. もとより生体は O_2^{\cdot} を SOD/カタラーゼ系, GSH/GSSG 系により消去するが, この生体の消去系を上回る ROS が産生されると, 内皮細胞傷害, 血小板活性化, 血管透過性の亢進, 血管攣縮から血流障害を引き起こす.

好中球はさらに血小板活性化因子 (PAF), 種々のロイコトリエン (LT) を産生し, 前者は血小板, 好中

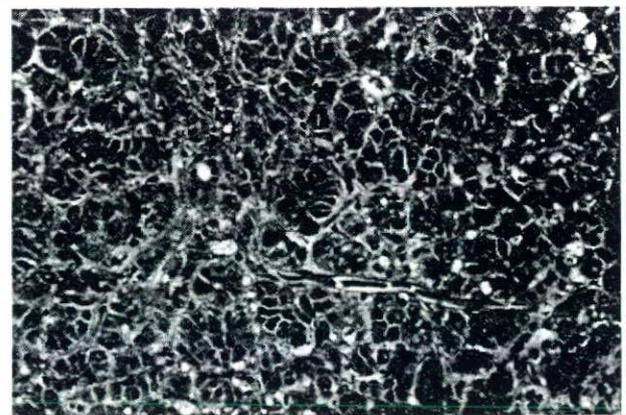


図 12.12 血流再開 1 時間後の移植臓生検で認められた, 毛細血管内の赤血球連鎖形成. カラー口絵参照.

球を活性化して、血管透過性、平滑筋収縮を亢進させ、後者のうちLTB₄は好中球遊走、粘着、ROS産生を、LTC₄、LTD₄は血管透過性、平滑筋収縮を亢進させる。さらに好中球により産生されるTNF、IL-1、IL-8は内皮傷害を促進し、同じく活性化血小板から遊離されるPAFも内皮傷害に関与する。活性化した血小板から遊離されるTXA₂は血小板凝集をさらに促進し、血管攣縮を引き起こす。

内皮傷害によりトロンボモジュリン、プロテインC、PGI₂、eNOSによるNO産生は低下し、凝固系活性化、血管収縮、血小板活性化はさらに促進される。

すでに述べたようにイヌ臓器移植における実験的検討では、移植臓に浮腫をきたし、移植臓重量が増加することが示されている。おそらく再還流時に血管内皮細胞が傷害され、血管の透過性が亢進して移植臓の浮腫をきたしたものと推定される。さらに血流再開後脾静脈血におけるTXB₂が増加し、6-keto-PGF_{1α}が減少すると報告されており、これは脾静脈血中のTXA₂/PGI₂比が上昇することを示している^[6]。虚血再灌流による内皮傷害とそれによる血小板活性化がTXA₂の放出とPGI₂の産生低下に関与しているものと考えられる。

3 移植臓血栓症

3.1 移植臓血栓症に関与する因子

免疫抑制法の進歩により移植臓のimmunological lossは減少し、1%前後とされており、移植臓血栓

症は臓器移植後の最大の問題と言っても過言ではない。University of Wisconsin (UW) 液の臨床への導入により、臓器移植後の血栓症の頻度は減少したが、いったん血栓症を併発すると移植臓は壊死に陥り、移植臓摘出を余儀なくされる。移植臓血栓症の発生頻度は5~7%とされ、その克服は今なお臓器移植の成績向上においては重要な課題であることには変わりはない。移植臓血栓症に関与する因子を表12.11に示す。

a. 臓器虚血

すでに述べたように臓器虚血および保存中に血管透過性の亢進、Na⁺/K⁺-ATPaseの低下により臓器細胞の浮腫による毛細血管の狭小化、内皮傷害をきたす。また播種性血管内凝固(DIC)が併存する場合は、毛細血管内にフィブリン血栓を起こす。臓器の血管構築は臓器細胞と臓器島が直列となっており、臓器細胞での血流障害は臓器島の血流障害を招来する。また内皮傷害によりトロンボモジュリン、プロテインC、PGI₂、NO産生は低下し、凝固系活性化、血管収縮、血小板活性化はさらに促進される。

b. 虚血再灌流傷害

血流再開とともに内皮に接着した好中球から放出されるエラスターゼ、ROS、PAF、LT、サイトカインにより、内皮傷害はさらに促進される。この結果トロンボモジュリン、プロテインCは低下し、PGI₂産生低下は同時に亢進するTXA₂産生と相まって血管内凝固を促進させる。

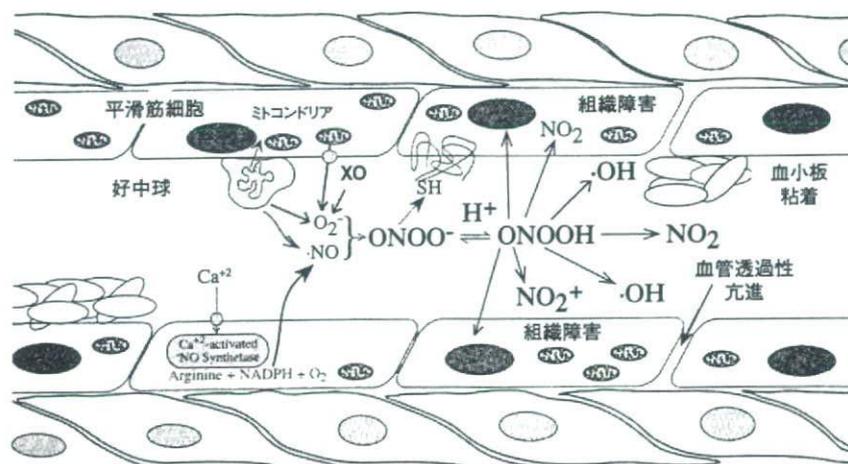


図 12.13 虚血再灌流傷害における活性酸素種産生と血管内皮傷害. 文献 [9] より引用.

c. 摘出時・移植時の脾損傷

脾摘出時、脾臓移植時の脾把持、機械的圧迫は脾の浮腫を促進するとされ、毛細血管の狭小化をきたす。

d. 免疫学的傷害(拒絶反応)

血流再開後に移植脾中の樹状細胞は血流を介してレシピエントリンパ組織血流を介してレシピエントリンパ組織(主として脾臓)に到達し、T細胞領域(脾臓ではPALS[動脈周囲リンパ鞘]、リンパ節では傍皮質領域)のT細胞と接触する。樹状細胞膜上のクラスIIおよびクラスI抗原上に提示された同種移植抗原ペプチドを、それぞれCD4⁺(Th0)、CD8⁺が認識し、Th0はIL-12、IFN- γ 存在下でTh1に分化してIL-2を産生し、CD8⁺は活性化cytotoxic T細胞(Tc)に分化する。Th1およびTcはIL-2によりautocrine, paracrineに増殖し、血流を介して移植脾に浸潤して傷害する。内皮傷害が強い場合は血栓形成を引き起こす可能性もあるが、上記の過程には数日以上を要するため、移植後早期の血栓形成へのこれらの免疫学的傷害の関与は少ないと考えられる。

表 12.11 移植脾血栓形成に関与する因子

脾損傷			
虚血傷害：死戦期・保存中	D	P	
脾把持・機械的圧迫		P	Op
再還流傷害：血流再開時	D	P	R
免疫学的傷害	D		R
脾炎・浮腫	D	P	Op
年齢的要因：血管病変	D		
血管吻合			
技術的要因：狭窄・捻転・内膜内反			Op
静脈内血流動態：静脈うっ滞・門脈内逆流			Op R
脾外性圧迫：閉腹時			Op R
血液凝固能亢進			R
血小板凝集能亢進			R
赤血球変形能低下・凝集能亢進：連銭形成			R

D：ドナー側因子，P：摘出・保存に関連した因子，Op：手術操作に関連した因子，R：レシピエント側因子。

e. 脾炎

脾温虚血、冷虚血により虚血性脾炎が惹起され、その結果種々のメディエーターが放出され、凝固系を活性化する。虚血性脾炎自体は移植後2、3日で改善するが、移植直後のクリティカルな時期には移植脾血栓形成の危険因子の1つと考えられる。

f. 年齢的要因(血管病変など)

動脈硬化は血栓形成の危険因子である。特に上腸間膜動脈は動脈硬化をきたしやすく、さらに長期透析例では腸骨動脈の動脈硬化に加えて動脈石灰化をきたしており、注意を要する。

g. 血管吻合(技術的問題)

血管吻合は血栓形成の大きな危険因子である。内膜の接着は最も重要であるが、グラフト側動脈の内膜剥離は動脈血栓形成を惹起する。もともと脾の血流量は少なく、血流再開直後の血流量は上記の理由によりさらに低下している。移植脾の静脈径は血流に比して太いため、移植脾における静脈血流は静脈吻合部付近では緩徐となる。静脈吻合の捻れ、吻合による近位部腸骨静脈の狭小化はさらに移植脾静脈内の血流鬱滞を促進する。総腸骨静脈における静脈圧が上昇した場合は、腸骨静脈末梢側からの静脈血が移植門脈内に逆流し、to-and-flowの血行動態を呈することもあり得る。左腸骨静脈は左総腸骨動脈と第5腰椎により圧迫されているため静脈うっ血をきたしやすく、特に腎移植後脾臓移植の際など左腸骨静脈に静脈吻合を行う際には注意が必要である。

h. 脾外性圧迫(閉腹時)

閉腹時に移植脾が圧迫され、静脈系が圧排、屈曲することがあるため、移植脾の浮腫が高度な場合、移植脾静脈が長すぎる場合、静脈吻合部に若干の捻れがある場合は、特に閉腹時における注意が必要である。

i. 血液凝固能亢進

手術時には一般に凝固能は亢進するが、レシピエント側に凝固能亢進がある場合は特に注意が必要で

ある。内皮傷害による粗面との接触，トロンボモジュリン，プロテインC産生の低下のため，凝固能の亢進は静脈血栓の大きな危険因子となる。またドナー側の凝固能亢進は，死戦期における凝固能亢進と相まって腓毛細血管内に微小血栓をきたしている可能性がある。またドナーにDICが併存する場合は，腓毛細血管内にフィブリン血栓をきたしているため特に注意が必要である。

j. 血小板凝集能亢進

一般に糖尿病患者では血小板凝集能が亢進しており，内皮傷害が高度の場合は血流再開後，内皮への血小板の粘着，凝集が惹起される。PAF産生の亢進， PGI_2 産生低下， TXA_2 産生亢進はさらに血小板凝集を促進する。特に血流が緩徐である静脈吻合部付近ではこの傾向は強まる。

k. 赤血球連鎖形成

赤血球の直径は7～8 μm ，毛細血管の内径は3～4 μm であり，赤血球の通過には赤血球の変形が不可欠である。赤血球膜の脂質二重層を裏打ちする膜骨格蛋白は，水平方向の網目状分子配列（spectrin, actin, adducin, 4.1蛋白など）と，ankyrin, 4.1蛋白質などのアンカー蛋白を介してこれに連結される膜貫通蛋白（band 3, glycophorin Cなど）の垂直方向分子配列により構成される（図12.14）^[10,11]。水平方向の分子配列は電子顕微鏡で六角形格子上の

網目状構造として観察され，その伸縮により膜骨格を変形させる（図12.15）。赤血球はこの膜骨格蛋白の伸縮による変形により毛細血管内を通過し得る。赤血球の変形能をEktacytometerを用いたレーザー回折法により検討すると，非腎不全糖尿病および糖尿病透析患者の赤血球の変形能は低下する傾向を示した^[12]。また連続減衰負加圧式ニッケルメッシュフィルトレーションにより赤血球通過能を検討すると，糖尿病透析患者では著明に赤血球の通過能が低下した（図12.16）^[12]。赤血球をフェニルヒドラジンで酸化すると，その変形能，膜安定性はさらに低下すること，脂質二重層および膜骨格蛋白の酸化的修飾は，赤血球の変形能を低下させ，その結果通過能は低下することが判明した^[12]。

赤血球膜の脂質二重層は外層に phosphatidylcholine (PC), sphingomyelin などのコリンリン脂質が，内層に phosphatidylserine (PS), phosphatidylethanolamine (PE) などのアミノリン脂質が局在し，脂質二重層の非対称性が維持されている。PSと結合するFITC標識 Annexin-Vを用いたフローサイトメトリーによりPSの脂質二重層の外層移行を検討すると，糖尿病患者，慢性腎不全患者，健常対象者の順にPSの外層移行は顕著であった^[12]。4.1蛋白のN末端30 kDa結合ドメインは脂質二重層内層のPSと結合する。PSの外層移行は4.1蛋白のPSへの結合を阻害することにより，脂質二重層と膜骨格蛋白の相互作用に何らかの変化を生じ，これが赤血球変形能の低下の要因である可能性が示された^[12]。

また赤血球膜は脂質二重層表面に存在する糖蛋白

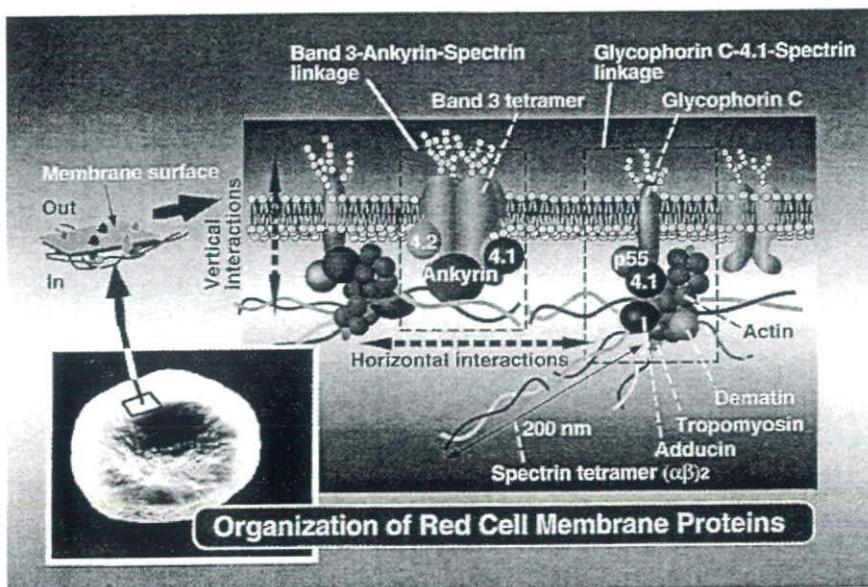


図12.14 赤血球膜の基本構造。

(glycophorin など) 側鎖のシアル酸により陰性に荷電しており (ζ 電位), 赤血球相互また同じく陰性に荷電した内皮と反発し合っている. エンド- β -ガラクトシダーゼ処理により赤血球膜表面の糖鎖を除去すると, 赤血球相互の集合化 (aggregation) が認められた^[12]. また赤血球膜表面の糖鎖に特異的に結合するレクチン処理を行った後に, レーザー回折法を用いて変形能を検討したところ, 赤血球の変形能の低下が認められた^[12].

3.2 移植腎血栓症の発生機序

糖尿病透析患者の赤血球は変形能, 通過能が低下しており, 再還流時の ROS による赤血球膜の脂質過酸化, 膜骨格蛋白の酸化的修飾によりさらに変形能, 通過能は低下する. また陰性荷電の低下は赤血球相互の集合化を促進すると考えられる. これらの結果, 毛細血管内における赤血球の連鎖形成が進行し, 微小循環障害を招来する. 微小循環障害が高度の場合は毛細血管内に微小血栓を形成し, これは次第に中枢側静脈内血栓へと進展する. また微小循環障害による移植腎血流低下は, 門脈吻合部における血液還流の減少を引き起こし, 中枢側腸骨静脈圧が高い場合は末梢側腸骨静脈からの血流が門脈吻合部に逆流をきたし, 門脈吻合部における血栓形成を促進する.

血管透過性の亢進による腺房, 間質の浮腫, 毛細血管の攣縮による内腔狭小化は, 赤血球の通過障害, 集合化を促進し, さらに内皮傷害は, 凝固能の亢進,

血小板粘着, 凝集, 放出反応を惹起する. ドナー死戦期の血流障害, DIC はさらに上記を促進する.

上記の過程には ROS, PAF, TXA₂, LT, サイトカイン, 好中球エラスターゼなどのメディエーターが関与する. また内皮傷害による eNOS, PGI₂, トロンボモジュリン, プロテイン C などの産生低下も移植腎血栓形成に関与する重要な因子である (図 12.17).

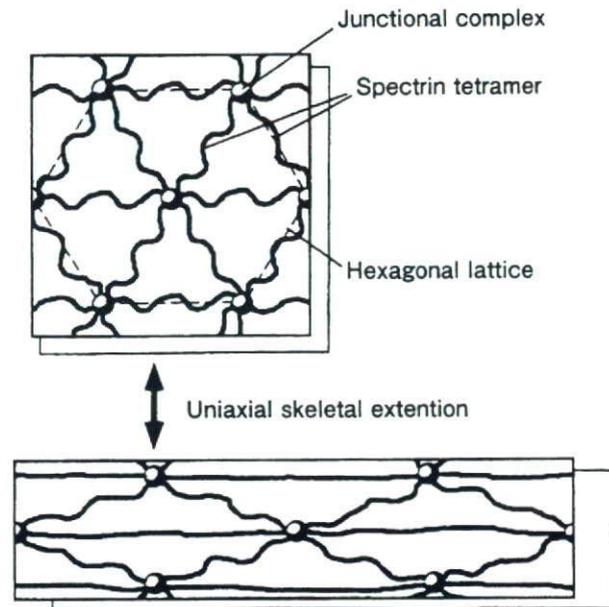


図 12.15 赤血球膜骨格蛋白の伸縮性変形. 赤血球骨格蛋白の六角形格子の伸縮による変形 (表面積は不変).

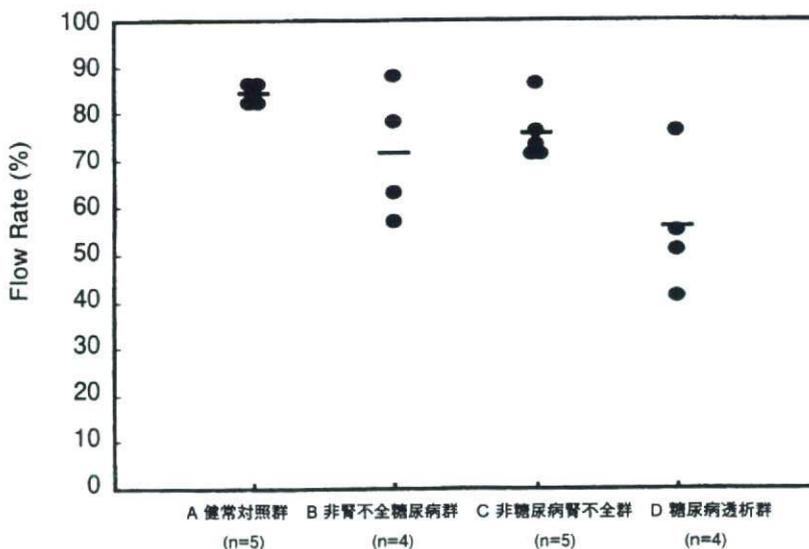


図 12.16 連続減衰負加圧式ニッケルメッシュフィルトレーション法による赤血球通過能. PBS Buffer に対する割合 (-30 mmH₂O).

また静脈吻合部の捻れ、流出側の相対的狭窄、閉腹時の圧迫による門脈の屈曲も移植膵血栓に関与すると考えられる。

3.3 移植膵血栓への対策

a. 虚血再灌流傷害

虚血および虚血再灌流傷害による膵組織浮腫と血管攣縮による毛細血管狭小化、内皮傷害とそれに続く凝固能亢進、血小板活性化が移植膵血栓の発生機序に関与すると考えられるが、膵の虚血限界については明確なデータは得られていない。UW液の導入により移植後血栓症の発生率は減少したとされるが、UW液導入後においても5~7%前後に及ぶとされている。蘇生後脳症、死戦期における一過性心停止、持続性低血圧、大量の昇圧剤投与例においては、移植後血栓症の発生に十分に注意する必要がある。

b. 膵組織浮腫

虚血、保存、虚血再還流に加えて、膵摘出時における膵の把持、圧迫、牽引などによる操作で浮腫が生じるとされている。膵摘出時には可及的に愛護的な操作が要求される。保存中の浮腫については、UW液による灌流、保存により軽減し得るとされている。

c. 手術操作

吻合時に内膜を接合させることは当然のこととし

て、吻合部の狭窄、捻れ、流出側血管の狭窄、血管の屈曲などに注意する必要がある。また吻合時の移植膵の把持、圧迫、牽引も血流再開後の浮腫の原因となることから、吻合操作においては細心の注意が必要である。さらに閉腹による移植膵の圧迫、血管の屈曲にも注意を要する。

d. 抗血栓療法

移植後の抗血栓療法としては、ヘパリン、プロテアーゼインヒビターなどによる抗凝固療法、抗血小板薬、PGE₂、アンチトロンビンIII(AT-III)、循環改善薬などが用いられる。ヘパリンが最も頻用されるが、過量投与は出血の原因となるため凝固能のモニタリングが必要である。ヘパリンの静脈内投与は血小板凝集能の亢進をもたらすことがあるため、抗血小板薬の併用が望ましい。また抗ヘパリン抗体が存在する場合は、血小板・抗ヘパリン抗体・血小板第4因子三量体の形成による血小板凝集、血小板減少症をきたすことがあるので注意を要する。メシル酸ガベキサート(FOY)、メシル酸ナファモスタット(FUT)などのプロテアーゼインヒビターは抗凝固作用自体はそれほど強力ではないが、虚血性膵炎の予防にも有効と考えられる。

移植膵血栓症の予防のための抗血小板薬としては、効果発現が早い、半減期が短い、強力かつ調節性に優れていることが条件であろう。また静脈内投与も可能であることが望ましいが、これらすべての条件を備えている抗血小板薬は現存しない。PGE₂は血小板凝

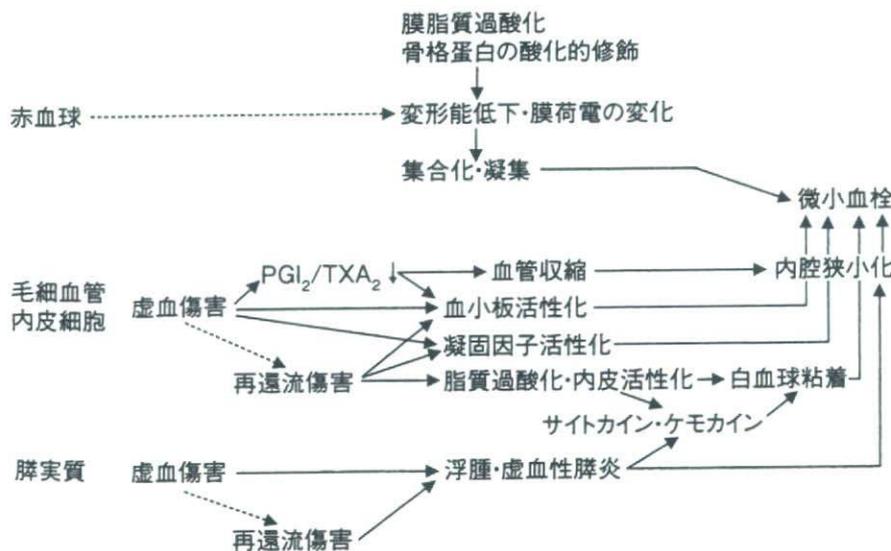


図 12.17 移植膵微小血管内血栓形成の機序。

集抑制作用に加えて血管拡張作用、免疫抑制作用を有するが、血小板凝集抑制作用自体はそれほど強力ではない。ヘスパンダーなどの循環改善薬は、腎毒性、出血傾向の増大などのため注意を要する。

表 12.12 に移植膵血栓症予防のための抗血栓療法例の1例を示す。

4 薬剤性インスリン合成・分泌障害

4.1 カルシニューリン阻害剤によるインスリン合成障害

カルシニューリン阻害剤 (calcineurin inhibitor, CNI) は膵β細胞に機能的、形態学的障害をきたし、臨床臓器移植においても耐糖能障害を引き起こすとされている。ラット腹腔内にシクロスポリン (CsA) 25 mg/kg を3週間、あるいは経口的に CsA 50 mg/kg を4週間投与すると、IV-GTTにおいてインスリン基礎分泌および追加分泌は著明に低下する (図 12.18) ^[13,14]。また光学顕微鏡で膵島内に高度の空胞変性が認められ、抗インスリン抗体を用いた peroxylase-antiperoxylase (PAP) 法によるインスリン染色で、膵島内におけるインスリン陽性細胞はほぼ消失する (図 12.19) ^[13,14]。電子顕微鏡による観察では膵β細胞内の小胞体が拡張し、次第に囊胞状に拡大し、最終的には細胞質全域を占める空胞形成に至り、インスリン顆粒、ミトコンドリアはほぼ消失するに至る (図 12.20) ^[13,14]。これに対してグルカゴン陽性細胞はその分布においても、

細胞内小器官においても変化は認められない ^[14]。

臨床腎移植においても、CsA 投与例で8%、タクロリムス (TRL) 投与例で16%に移植後糖尿病 (PTDM) の発症が認められる。これらはCsA、TRLが膵島β細胞に機能的異常をもたらすことを示している。この機能異常がインスリン生合成を阻害することによるのか、あるいはインスリン分泌を抑制することによるのかについては、今後さらに検討が必要であるが、ラットへのCsA投与実験では膵組織内インスリン含有量が著明に減少すること、インスリン顆粒がほぼ消失するなど、インスリン生合成が阻害される可能性を示唆している。

TRLの細胞内結合蛋白であるFKBP12.6は膵β細胞小胞体のリアノジン型Ca²⁺チャネルに結合しており、ブドウ糖刺激下でCD38 (ADP-ribosylcyclase) により膵β細胞内のNAD⁺からcyclic ADP-riboseが産生され、これがFKBP12.6に結合してFKBP12.6がCa²⁺チャネルから遊離し、Ca²⁺チャネルが開いて細胞質内Ca²⁺濃度が上昇し、インスリン分泌を起こすとされているが、TRLが膵β細胞内でFKBP12.6に結合するとcyclic ADP-riboseがFKBP12.6に結合できなくなり、インスリン分泌が抑制されると考えられている (図 12.21) ^[15]。以上よりCsAおよびTRLは膵β細胞内におけるインスリン生合成を阻害し、TRLはさらにインスリン分泌を抑制すると推定される。

4.2 臨床膵臓移植における移植膵機能障害

脳死膵臓移植においてもインスリン治療からの離

表 12.12 膵臓移植における抗血栓療法

	術前	術中～術後1週	2週～4週
FOY またはメシル酸 ナファモスタット		30～40 mg/kg div	
PGE ₁		3～5 mg/kg div (ACT 150～180秒)	
		3 ng/kg/分 div	
ATIII (ATIII < 50%の場合)		30 U/kg div (ATIII ≥ 70%)	
ヘパリン シロスタゾール	100mg po	6000U/24hrs div 術後 200mg/2 × po	→→→→→

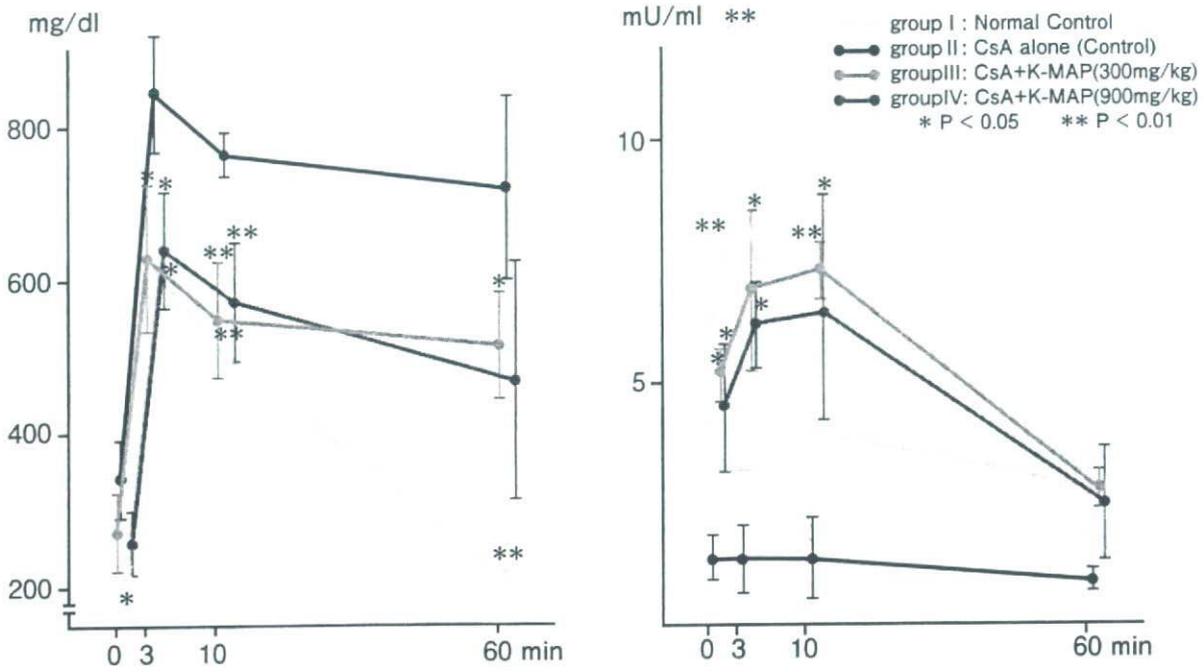


図 12.18 左：血漿グルコース濃度 (IV-GTT)，右：血漿インスリン濃度 (IV-GTT)。

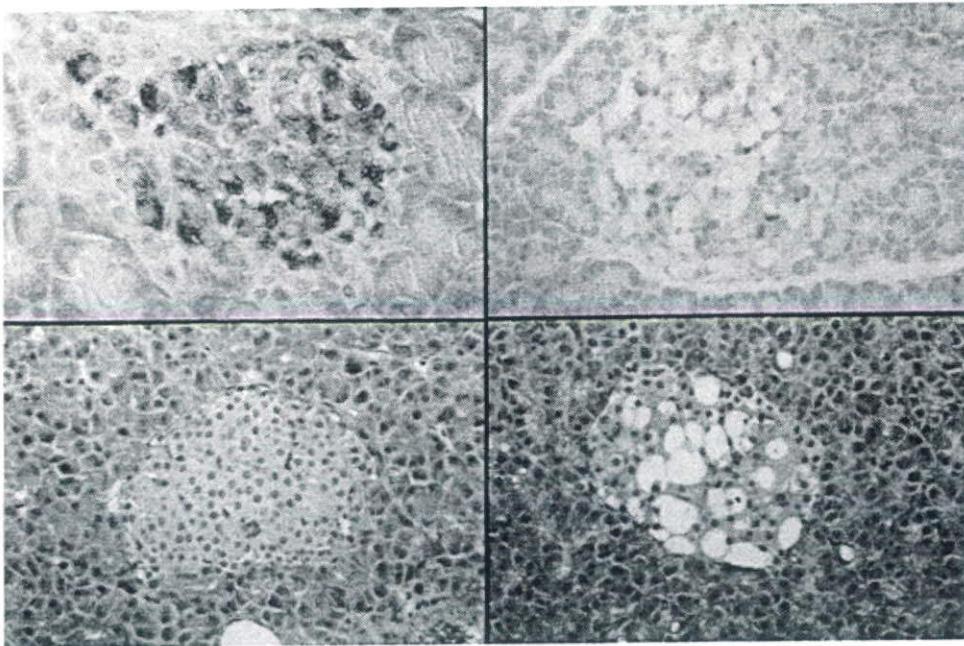


図 12.19 CsAによる膵島内空胞化とインスリン顆粒の消失(光学顕微鏡)。上段:PAP法によるインスリン染色, 下段:HE染色 (×400), 右:CsA投与群, 左:CsA + K-MAP投与群。カラー口絵参照。

脱が遅延する症例が認められる。図 12.22 に我々が経験したインスリン治療からの離脱が遅延した症例 (33 歳, 男性) の経過を示す。TRL, ミコフェノール酸モフェチル (MMF), メチルプレドニゾン

(MP) で導入し, 移植後 8 日目にいったんインスリン治療から離脱したが 10 日目より少量のインスリン治療を再開し, 移植後 15 日に移植腎生検により拒絶反応と診断し, ステロイドパルス療法を行い

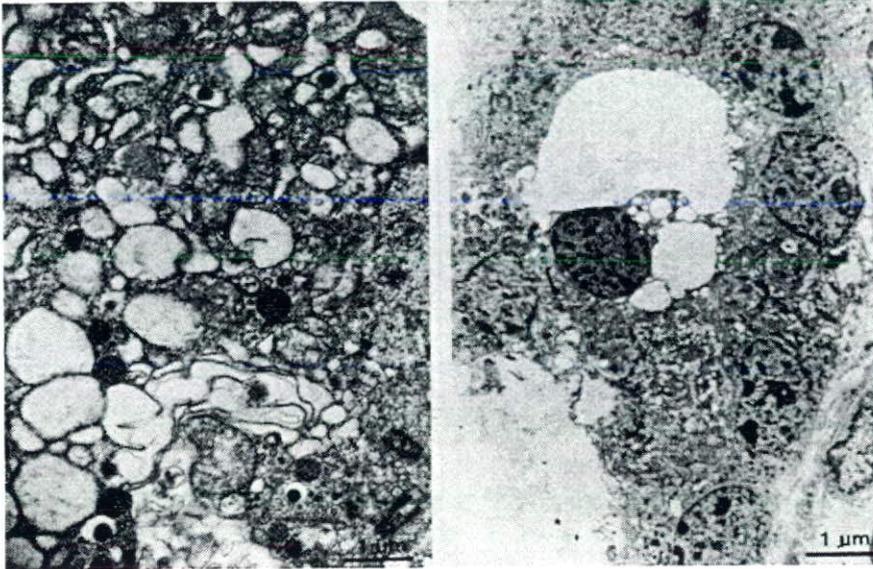


図 12.20 CsA による膵島内空胞化とインスリン顆粒の消失 (電子顕微鏡). 左:小胞体の拡張,インスリン顆粒の減少,ミトコンドリアの減少,右:細胞質の囊胞化とインスリン顆粒の消失.

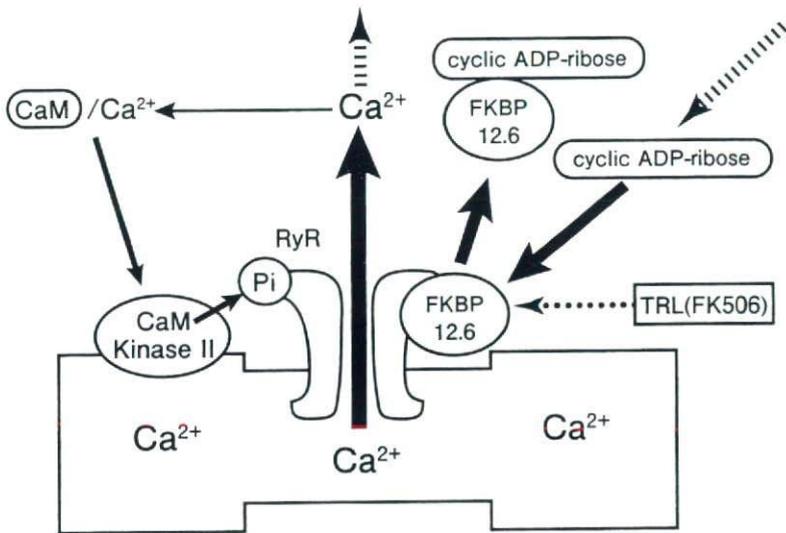


図 12.21 膵β細胞小胞体のリアノジン型Ca²⁺チャンネルとFKBP12.6.ブドウ糖濃度が上昇するとcyclic ADP-riboseが合成されてFKBP12.6と結合し,FKBP12.6が遊離してCa²⁺チャンネルが開き,細胞内Ca²⁺濃度の上昇とともにインスリンが分泌される.TRLが投与されるとβ細胞内でFKBP12.6と結合し,Ca²⁺チャンネルが開かなくなるため,細胞内Ca²⁺濃度が上昇せず,インスリン分泌が抑制される.文献[15]より引用.

インスリン投与量が増加した. この間 TRL 投与量は 5 ~ 10 mg/日であり, その血中濃度は 10 ~ 20 ng/ml (トラフレベル) であった. その後 TRL 投与量は 4 ~ 7 mg/日, 血中濃度は 5 ~ 10 ng/ml で推移したが, インスリン離脱は得られず, 移植後 56 日目に移植腎生検を行い再度ステロイドパルス療法を施行した. TRL を CsA (300 ~ 400 mg/日, 120 ~ 220 ng/ml) に変更し, CsA を減量した (250 mg/日, 90 ~ 130 ng/ml) ところ, 移植後 78 日目にインスリン離脱し, 移植後 6 年を経過した現在 HbA_{1c} は 5.2% 前後で推移している.

また腎移植後膵臓移植を実施した症例 (37 歳, 男性) においては, パシリキシマブ, TRL, MMF, MP で導入し, 術後経過はきわめて良好であったが

少量のインスリン投与を必要とした. その後 TRL を漸減する過程でインスリン離脱となったが, 離脱までに 120 日を要した. さらに他の腎移植後膵臓移植を実施した症例 (40 歳, 男性) においても, パシリキシマブ, TRL, MMF, MP で導入して術後少量のインスリン投与を必要とし, TRL を漸減する過程で移植後 60 日後インスリンを離脱し得た.

インスリン離脱の時期については移植膵の viability, 移植後の拒絶反応, 移植膵血流, 併用するステロイド投与量なども関与していると考えられる. 筆者らが 1990 年から 1994 年までに実施した心停止ドナーからの膵腎複合移植 (抗リンパ球抗体CsA, アザチオプリン, MP で導入) においては, 11 例中 7 例が血流再開後 1 ~ 4 時間でインスリン離脱が得られ, 他は 3 日 ~ 18 日

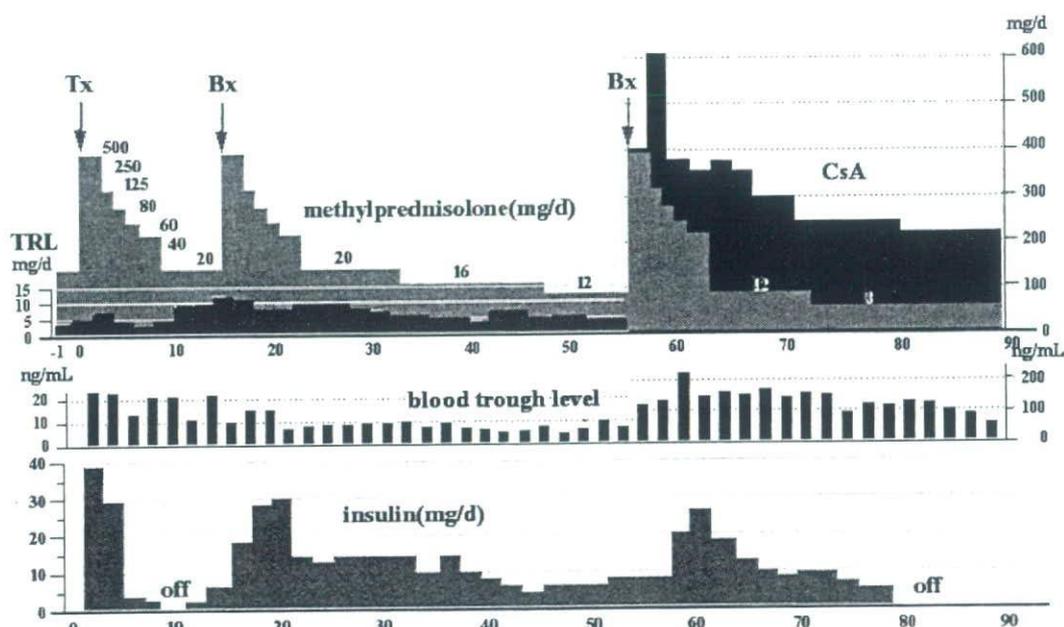


図 12.22 腎臓同時移植後の経過図。

を要しているのに対し、脳死ドナーからの移植では6例中3例がインスリン離脱までに長期間を要していること、さらに必ずしもCNIの血中濃度によらないことから、個人の感受性が要因の1つと考えられる。感受性を規定する因子としてはシトクロム P450 3A4 (レシピエント側因子)、膵β細胞内シクロフィリン、FKBP、P糖蛋白(以上ドナー側因子)などが想定されるが、後述するようにCNIの血中濃度より膵組織内濃度が影響していることから、P糖蛋白をコードするMDR1遺伝子の多型性が関与していると推定される。

4.3 CNIによる膵β細胞機能障害に対する対策

前項で述べたラットの実験においてp-aminobenzoic acid-N-D-mannoside salt (K-MAP) を併用すると、膵β細胞の機能的・形態学的障害を防止し得る。CsAの腹腔内あるいは経口投与にK-MAPの300 mg/kg/日、900 mg/kg/日の経口投与を併用すると、機能的にも形態学的にも上述したCsAによる障害が軽減ないし防止可能である(図12.18, 12.19) [13,14]。またK-MAPの併用により、CsAによる急性(腎血流量の低下、糸球体濾過値の低下、尿細管空胞化)および慢性腎毒性(CsA-associated arteriopathy)も防止し得る [16,17]。

K-MAPは内因性のPGI₂産生を増加させ、TXA₂

産生を抑制するが、K-MAP投与による膵組織内のTXB₂、PGE₂、6-keto-PGF_{1α}含有量については一貫した結果は得られていない。興味深いことにK-MAPの併用によってもCsA血中濃度に有意差は認められないが、膵組織中のCsA濃度はK-MAP併用により用量依存性に減少する(図12.23) [14]。膵組織中のCsA濃度についても同様の結果が得られており、この事実は、K-MAP投与による膵β細胞機能障害の抑止効果の機序が、膵、腎の組織内濃度の低下による可能性を示唆しており、今後K-MAPのP糖蛋白に対する効果を検討する必要がある。

CsAの免疫抑制効果はリンパ球内のカルシニューリン活性と相関していることから、一般にCNIの免疫抑制効果はリンパ球内のCNI濃度、したがって血中CNI濃度に相関すると考えられる。CsAを投与したラット各臓器、組織中のCsA分布を検討すると、膵、脂肪組織で組織中CsA濃度は最も高く、次いで脳下垂体、小腸、肝、腎、脾で高い [14]。K-MAP投与により膵、脂肪組織、小腸、肝、腎、脾における組織中CsA濃度は減少するが、特に膵組織中CsA濃度の低下は顕著である [14]。このことはK-MAP投与によりCsAの組織分布に変化が起り、免疫抑制効果を保持したまま膵毒性を軽減し得ることを示唆している。このように薬剤の作用機序に直接影響することなく、その組織分布を変化させることにより、本来の薬効を減ずることなく副作用

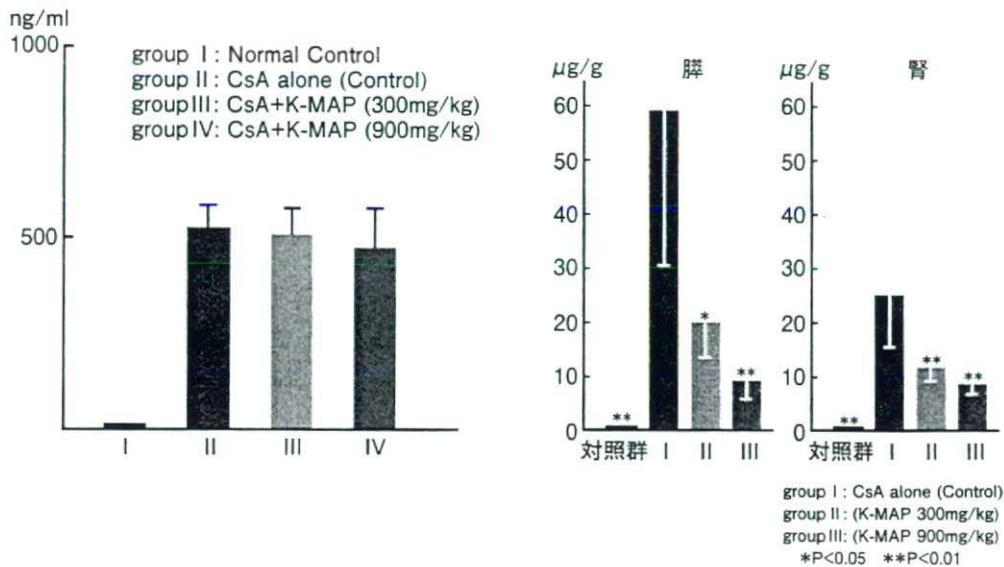


図 12.23 CsA 投与ラットにおける CsA の血中、および脾、腎組織内濃度。K-MAP 投与により血中 CsA 濃度は変化しないが、脾および腎組織内濃度は有意に低下する。

用を軽減し得る可能性が示され、今後 CNI の副作用を克服する方法の1つとして検討される必要がある。上記にかぎらず今後 CNI の副作用、特に脾β細胞毒性、腎毒性への対策についてさらに検討される必要がある。

将来的な展望として、*MDR1* 遺伝子などの多型性により CNI の種類を選んだり、投与量を変更したりすることも可能となると予想される。また Jak3 阻害剤などの分子標的治療薬が免疫抑制剤の分野でも次々と開発されつつあるが、これらの脾臓移植への導入により、low-dose CNI, CNI-off, さらには CNI-free のレジメが実現することが期待される。

5 移植腎臓炎

5.1 虚血性腎臓炎

脾臓移植後直後に血清アミラーゼ、リパーゼは上昇し、これらは移植後2～3日で正常化する(図12.24)^[7]。おそらくは温虚血・冷阻血傷害、虚血再灌流傷害によるものと推定される。虚血が許容範囲内であれば一過性の急性腎臓炎にとどまるが、虚血傷害が高度である場合は、移植腎臓血栓形成の促進因子となり得る。筆者らは、虚血性腎臓炎の治療と抗凝固療法を兼ねて、移植後1週間、FOY 40 mg/kg/日の持続静脈内投与を行っている。

5.2 逆流性腎臓炎

膀胱ドレナージ法 (bladder drainage) の場合、特に糖尿病神経障害による神経因性膀胱を呈する症例では、脾液・尿の移植腎臓管内逆流から逆流性腎臓炎を起こすことがある。再燃を繰り返す腎臓炎は、長期的には慢性腎臓炎に進展して脾外分泌組織の線維化、脾島の血流障害をきたし、脾臓機能の低下、さらには廃絶をきたすことから、enteric diversion を考慮するなどの対策が必要である。また腎移植後脾臓移植で、排尿障害がある場合は腸管ドレナージ法 (enteric drainage) が望ましい。

5.3 薬剤性腎臓炎

ステロイド、アザチオプリンなどの免疫抑制剤、フロセミド、ヒドロクロロチアジド、エタクリン酸などの利尿剤、ペンタミジン、リファンピシン、イソニアジド、サリチル酸などは腎臓炎の起因薬剤として、古くから知られている^[18]。

5.4 ウイルス性腎臓炎

ムンプスウイルス、コクサッキー B ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、サイトメガロウイルス (CMV)、肝炎ウイルスなどが腎臓炎を起こすことが報告されている。特に脾臓移植後においては

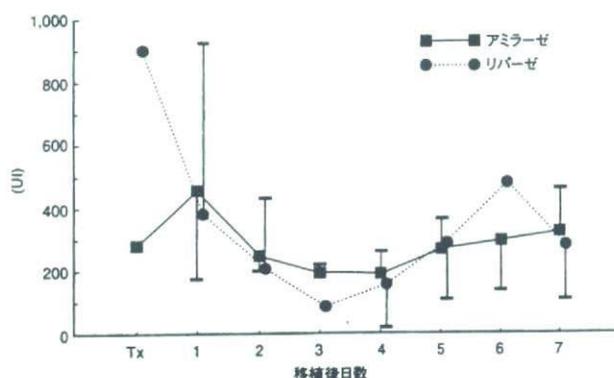


図 12.24 膵臓移植後における血清アミラーゼ，リパーゼ濃度の推移

CMV 抗原血症を示すことが多く，注意を要する。肝炎ウイルスのうち B 型肝炎ウイルスは膵組織と親和性を示すとされている。

5.5 腎機能低下時における膵炎診断上の注意点

腎機能低下時には排泄障害のため，血清中のアミラーゼ，リパーゼ，トリプシン，pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI)，ホスホリパーゼ A₂ は上昇し，クレアチニンクリアランスと逆相関するとされている。膵腎複合移植においては単腎であるため糸球体濾過値は低下しており，上記の膵炎マーカーは上昇する傾向があるので，膵炎診断に際しては注意が必要である。アミラーゼクリアランスをクレアチニンクリアランスで除した ACCR (amylase creatinine clearance ratio)，肝排泄性のエラスターゼ 1 の測定は，腎機能低下時の膵炎診断に有用である^[19]。

6 おわりに

膵臓移植後における移植膵の虚血再灌流傷害，膵血管内血栓症，薬剤性膵島機能障害，膵炎などの非免疫学的傷害について概説した。新しい免疫抑制剤の導入より，拒絶反応による移植膵機能廃絶の頻度が減少した今日，これらの移植膵の非免疫学的傷害に対する対策の重要性がますます高くなると言えよう。

(寺岡 慧)

参考文献

- Binder PS, Heiskell CA, Bergan JJ, et al (1970) Pancreatic function after normothermic ischemia. I. In vivo ischemia. *Am J Surg* 120: 687-692
- Florack G, Sutherland DER, Najarian JS, et al (1984) Function of segmental pancreas grafts subjected to warm ischemia prior to hypothermic preservation. *Transplant Proc* 16: 111-114
- 伊豆蔵正明 (1988) 膵部分移植に関する基礎的研究。移植膵の内分泌機能よりみた常温下虚血の影響。大阪大学医学雑誌 40:39-57
- 田名場善明, 里見進, 森昌造, 他 (1989) 温阻血膵の耐糖能および膵組織像の計量形態学的検討。移植 25:465-475
- 林武利 (1996) 31P-NMR spectroscopy を用いた膵の温阻血障害に関する実験的研究。東女医大誌 66:11-19
- Kawai T, Teraoka S, Takahashi K, et al (1991) The changes in prostaglandins after segmental pancreatic transplantation. *Transplant Proc* 23: 1645-1647
- Teraoka S, Babazono T, Fuchinoue S, et al (1995) Donor criteria and technical aspects of procurement in combined pancreas and kidney transplantation from non-heart-beating cadavers. *Transplant Proc* 27: 3097-3100
- Lawrence MB, Springer TA (1991) Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates: distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. *Cell* 65: 859-873
- Beckman JS (1996) The physiological and pathological chemistry of nitric oxide. [In] Nitric Oxide. principles and Actions. (edited by Lancaster J Jr, Academic Press, pp1-82
- 高桑雄一, 稲葉陸 (1998) 赤血球膜骨格。三輪史朗監, 藤井寿一, 高桑雄一編 赤血球, 医学書院, 東京, 81-92
- 濱崎直孝, 大久保研之 (1998) 赤血球膜貫通蛋白質。三輪史朗監, 藤井寿一, 高桑雄一編 赤血球, 医学書院, 東京, 93-113
- 寺岡慧, 高桑雄一, 岩本安彦, 他 (2005) 虚血膵における虚血再灌流傷害の機序の解明とその防止法および viability 評価法の開発に関する研究。平成 12~14 年度科学研究費補助金 [基盤研究 (B)(2)] 研究成果報告書
- Teraoka S, Kawai T, Babazono T, et al (1989) Modulation of prostaglandin metabolism by K-MAP and prevention of toxic effect of cyclosporine on pancreatic islet cells. *Diabetes* 38 (Suppl 1), 120-125
- Teraoka S, Babazono T, Ota K, et al (1989) Cyclosporine-associated toxicity in pancreatic islet cells and its prevention by K-MAP in cyclosporine-treated animals. *Transplant Proc* : 21: 2774-2779
- Okamoto H (1999) The CD38-cyclic ADP-ribose signaling system in insulin secretion. *Mol Cell Biochem* 193: 115-118
- Teraoka S, Takahashi K, Ota K, et al (1989) Improvement in renal blood flow and kidney function by modulation of prostaglandin metabolism in cyclosporine-treated animals. *Transplant Proc* 21: 937-940
- Teraoka S, Yamaguchi Y, Ikuzawa M, et al (1990) Prevention of cyclosporine-associated arteriopathy by p-aminobenzoic acid-N-D-monoside sodium salt (K-MAP) in spontaneous hypertensive rats. *Transplant Proc* 22: 1717-1719
- 佐竹克介 (1993) 薬剤性膵炎。膵臓病学 (竹内正編), 南江堂, 東京, 332-338
- 大槻真, 三浦良史 (1993) 膵疾患の診断。竹内正編 1-生化学的診断。膵臓病学, 南江堂, 東京, 195-214

13章 膵臓移植における免疫抑制法

1 はじめに

膵臓移植の術後管理において最も重要でしかも成績に影響する要因は免疫抑制法であろう。本項でははじめに膵臓移植に用いられる免疫抑制薬について概説し、膵臓移植における免疫抑制法の変遷を俯瞰し、最後に各代表的施設の免疫抑制法を紹介する。

2 免疫抑制薬

2.1. カルシニューリン阻害剤 (calcineurin inhibitors, CNI)

移植された膵臓に対する免疫反応は、同種移植抗

原の提示とその認識により開始される。移植膵内に存在するドナーの未熟抗原提示細胞 (APC) は、血流を介してレシピエントリンパ組織(主として脾臓)に到達し、T細胞領域(脾臓ではPALS [動脈周囲リンパ鞘], リンパ節では傍皮質領域)のT細胞と接触する。APCは炎症性サイトカインによって成熟し、ドナー class II および class I 抗原上に同種移植抗原ペプチド(alloAg)を提示する。CD4⁺ (Th0) は class II/alloAg を、CD8⁺ は class I/alloAg をそれぞれ認識し (direct recognition) (図 13.1), Th0 は IL-12, IFN- γ 存在下で Th1 に分化して IL-2 を産生し、CD8⁺ は活性化 cytotoxicity T細胞 (Tc) に分化する。産生された IL-2 は autocrine, paracrine に Th1 および Tc をさらに増殖させる (clonal expansion) (図 13.1)。

T細胞活性化のもう1つの経路は、遊離した同種抗

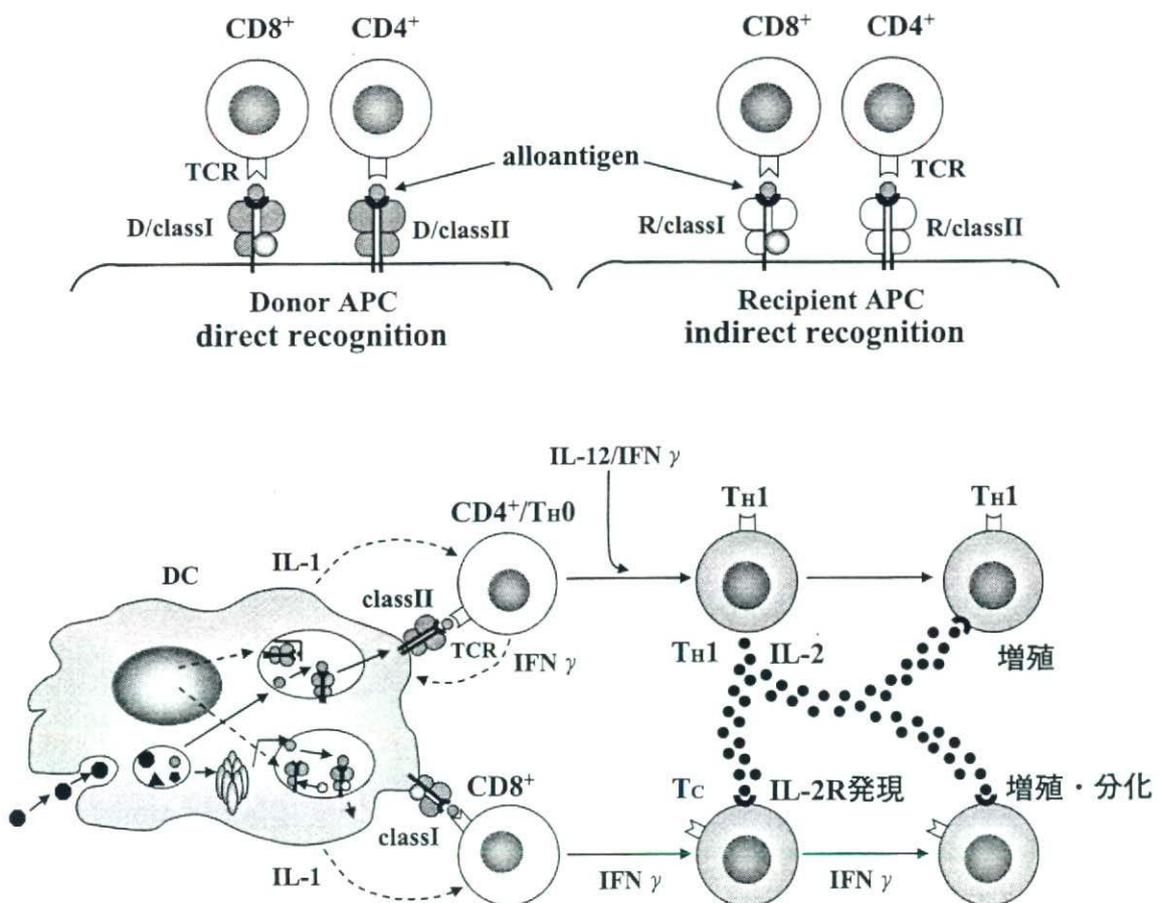


図 13.1 抗原認識とT細胞活性化. 左上: direct recognition, 右上: indirect recognition, 下: T細胞活性化.

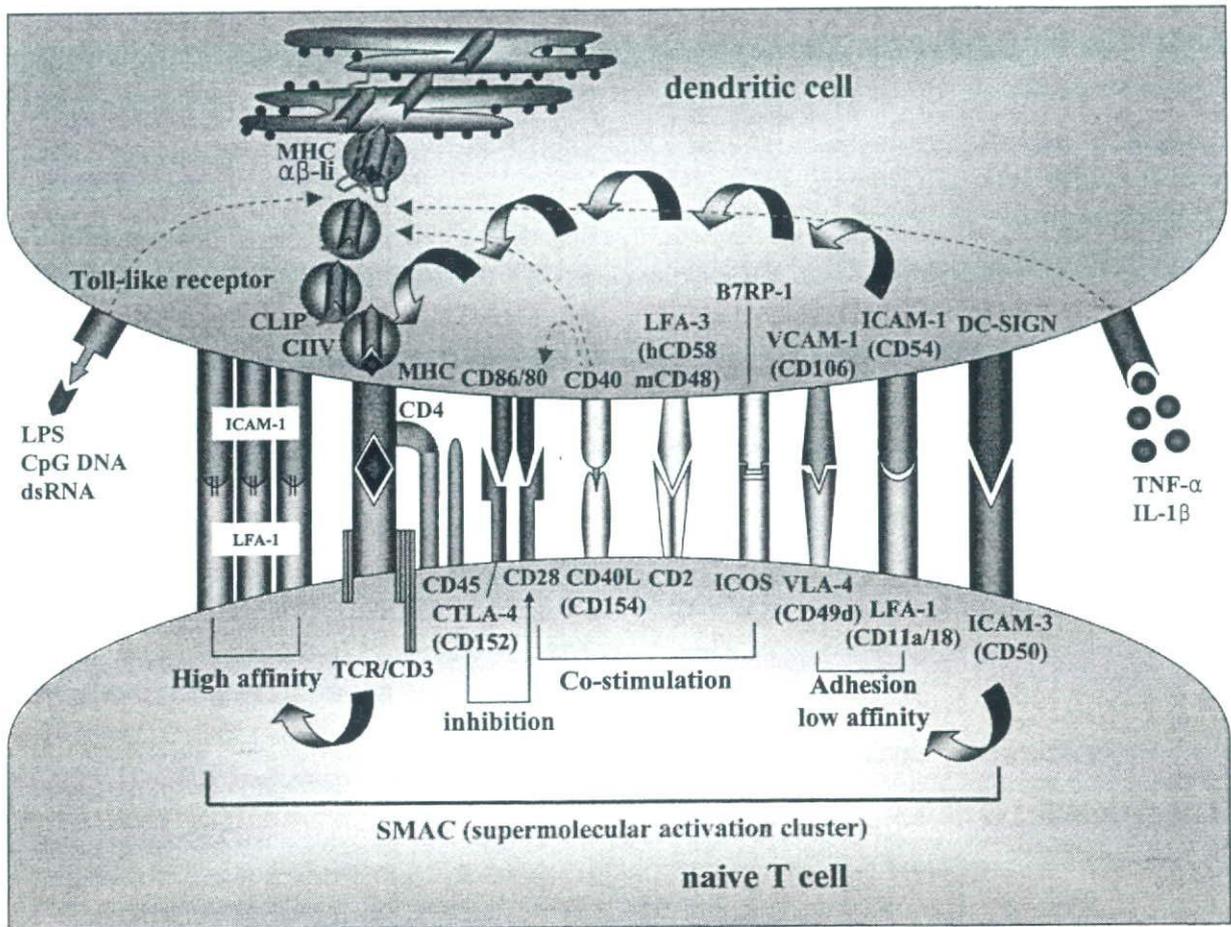


図 13.2 免疫シナプスの形成と抗原認識。

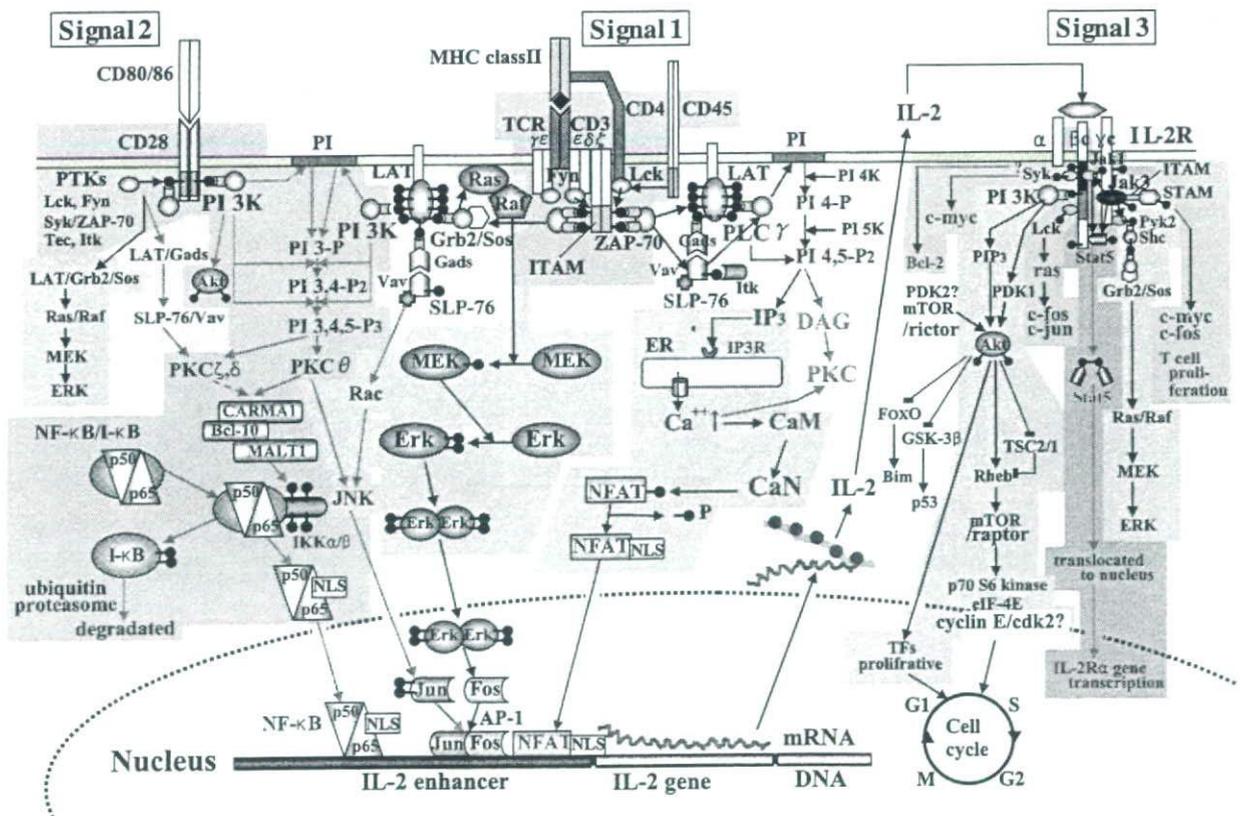


図 13.3 T細胞活性化シグナルと細胞内シグナル伝達。