

表 18.1 ラット MHC(RT1) 相異による移植臓器生着日数の比較

ドナー →	レシピエント	disparity	グラフト生着日数	
			n	日数
RT1.A B D C	RT1.A B D C			
LEW.1A a a a a	LEW.1U u u u u	Class I+II	6	9.3 ± 0.5
LEW.1A a a a a	LEW.R6 u a a a	Class I (RT1.A)	6	14.5 ± 3.4
LEW.1A a a a a	LEW.R3 a a a u	Class I (RT1.C)	6	26, > 100(5)
LEW.R6 u a a a	LEW.R4 u u u a	Class II	5	26 ~ 33, 46

RT1A, C: MHCクラスI, RT1B, D: MHCクラスII

表 18.2 RT1.C 抗原相異による各種移植の生着日数の比較

ドナー →	レシピエント	グラフト生着日数				
		皮膚	骨髄	心臓	腎臓	脾臓
RT1.A B D C	RT1.A B D C					
LEW.R4 u u u a	LEW.1U u u u u	29	135	> 100	ND	> 100
LEW.R3 a a a u	LEW.1A a a a a	17	14	> 100	> 100	> 100
LEW.R14 u u u l	LEW.1U u u u u	19	ND	> 100	> 100	17
LEW.R15 l l l u	LEW l l l l	18	12	> 100	ND	> 100

ND: not done.

腎臓グラフトの生着を比較したところ、移植腎は永久生着したが、移植脾臓は全て拒絶されたこと、さらに、脾臓同時移植を行うと、移植腎は移植脾臓より長期に生着延長したと報告している<sup>[4]</sup>。また、GuymerとMandelらは、角膜 (adult)、脾 (fetal)、皮膚 (fetal) を各々マウス腎被膜下に移植 (H-2<sup>d</sup> → H-2<sup>b</sup>) し、免疫原性 (immunogenicity) を比較した<sup>[5]</sup>。角膜に比して、脾と皮膚においてはクラスII抗原の発現ならびにIL-6の産生増強が認められ、拒絶されたと考えられた。

前述のHowardとButcherの報告<sup>[1]</sup>を受け、YamamotoらはPVG.R1 (RT1.A<sup>b</sup>B<sup>d</sup>D<sup>c</sup>C<sup>e</sup>) からPVG (RT1.A<sup>b</sup>B<sup>d</sup>D<sup>c</sup>C<sup>e</sup>) へのクラスI (RT1.A) disparityの“low responder”の系で、脾臓移植ならびに心臓移植を行うと、前者は拒絶されたのに対

して、後者は生着した<sup>[6]</sup>。このメカニズムとして、脾臓移植では心臓移植と異なり、CD4<sup>+</sup> T細胞依存性の液性免疫が惹起されていることを示した。さらに、Maedaらは同じモデルで脾臓移植を行うと、移植脾臓と同様に拒絶されることを示した<sup>[7]</sup>。以上より、移植脾臓は他の臓器に比して、免疫原性が高いことより、免疫寛容が誘導しがたいことがわかる。

#### 4 移植臓器に対する自己免疫応答

移植臓器に対するもう1つ重要な免疫応答として、脾臓β細胞に対する自己免疫の再燃がある。これは一卵性双生児間での生体脾臓移植において明らかとなった。

ミネソタ大学ではこれまでに9例の一卵性双生児間での生体臓器移植の経験があり、このうち技術的に問題のなかったのは7症例であった。初期の3例では免疫抑制療法が行われておらず、移植後5~12ヵ月と早期にグラフト機能を喪失しインスリン依存状態となった<sup>[8]</sup>。後期の4例については、まずCsA導入前の1例にはアザチオプリン(AZP)が投与されたが、移植後3年での生検では膵島炎(isletitis)がみられ約70%の膵島の傷害が認められた。そこで、CsAを導入したが、移植後5年でインスリン依存状態となった。次いで、CsA導入後の3例のうち、通常の免疫抑制療法(Minnesota ALGで導入し、CsAベースの維持療法)を行った場合には、移植膵は長期に生着(2002年で>14年、>11年)したが、減量の免疫抑制療法を行った1例では移植後1年の生検で膵島炎を認め、その後間歇的な抗T細胞抗体の投与を行うも、移植後8年でインスリン依存状態となった。したがって、一卵性双生児間での臓器移植においては免疫抑制を行わなければ、移植後早期に1型糖尿病の再燃が惹起され、低用量の免疫抑制療法ではその再燃を回避できず、通常の免疫抑制療法が必要であると考えられた。

1996年、Tydenらは標準の免疫抑制にもかかわらず、β細胞が選択的に障害された脳死下での膵腎同時移植2症例を報告した<sup>[9]</sup>。ともに、移植後2年半で再移植のため、グラフトが摘出された。肉眼的には正常で、組織学的には単核球浸潤を伴う膵島炎がみられ、拒絶の所見は認められなかった。免疫組織学的には、グルカゴン染色、クロモグラニン

A染色は陽性であったが、インスリン染色は陰性であった。Bosiらは臓器移植後の膵島に対する抗体(GAD-65, IA2)の出現と1型糖尿病再燃によるグラフト喪失との関連を示唆したが<sup>[10]</sup>、その後の研究によれば必ずしも抗体の存在だけでは説明されない。

さて、自己免疫応答を純粹に解析するためには、どうしても動物実験を導入しなければならない。我々は1型糖尿病モデルである、BBラット(RT1<sup>l</sup>)をレシピエントとし、MHCを共有するWFラット(RT1<sup>u</sup>)をドナーとする全膵十二指腸移植モデルを作製し1型糖尿病の再発ならびにその制御法を検討してきた。この移植モデルは無処置下では拒絶ではなく、1型糖尿病の再発が起こり、平均65.3日でケトアシドーシスにて死亡した(図18.3)。しかしながら、抗接着分子抗体にて免疫制御を行うと、レシピエントは>100日と良好な状態にて生存した<sup>[11]</sup>。また、BBラットは元来T細胞が少なく免疫不全状態にあることが知られているが、WFラットをドナーとして臓器移植を行うと、脾臓ではドナー由来のキメラT細胞が34%と非常に高率に出現し、T細胞が増加して免疫不全が改善する。BBラットやNODマウスでは制御性細胞として機能するNKT(natural killer T)細胞が欠如していることが知られており、そこでこのキメラのなかにNKT細胞が出現して自己免疫反応を制御しているのではないかという仮説を立てた。

NKT細胞は、NK細胞受容体とT細胞受容体の両者を有する特異なT細胞で、免疫反応をTh1、

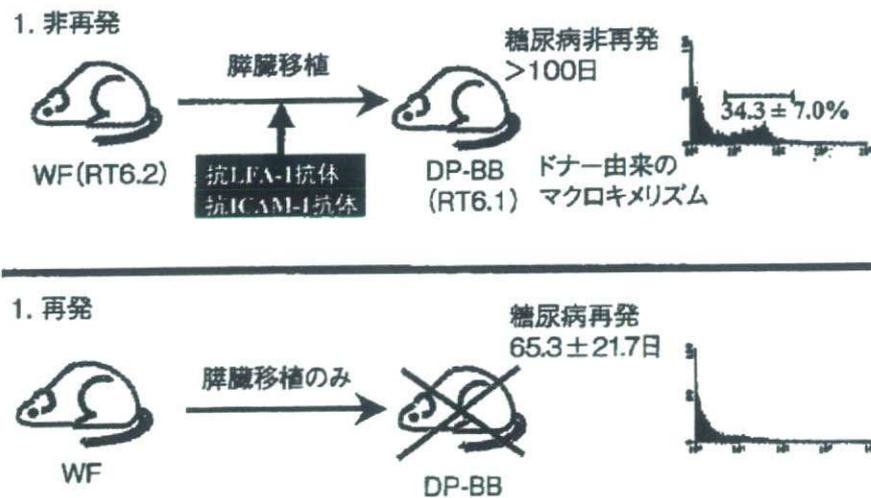


図18.3 1型糖尿病再発モデルと抗接着分子抗体による再発の制御。

Th2のいずれにもシフトさせることが可能であり、免疫調節に重要な働きをしていると考えられる。また、この細胞の分布は肝臓や骨髄に多いことが知られている。そこで、前述の膵臓移植を受けたBBレシピエントのキメラT細胞中のドナーNKT細胞の有無をみると、ドナー由来T細胞中にNKT細胞は21.6%も含まれており、またNKT細胞全体でみるとドナー由来NKT細胞は実に86.2%と高率に存在していた(図18.4)。血清中にはIL-4が有意に増加しており、ドナー由来NKT細胞が分泌するIL-4が免疫反応をTh2にシフトさせていると考えられた。

また、同じ実験系で、全膵十二指腸全体を移植した場合と膵島のみを移植した場合とを比較すると、

前者では生着延長が認められたが、後者では糖尿病の再燃がみられた<sup>[12]</sup>。おそらく、臓器としてもち込まれたときにはNKTの前駆細胞が存在し、これらが増殖しているのではないかと推測された。

以上より、免疫抑制下で誘導されたキメラT細胞中にNKT細胞が20~30%含まれており、そこから産生されるIL-4が免疫応答をTh2にシフトさせ、グラフトにおける1型糖尿病の再発を抑制されていると考えられた(図18.5)。

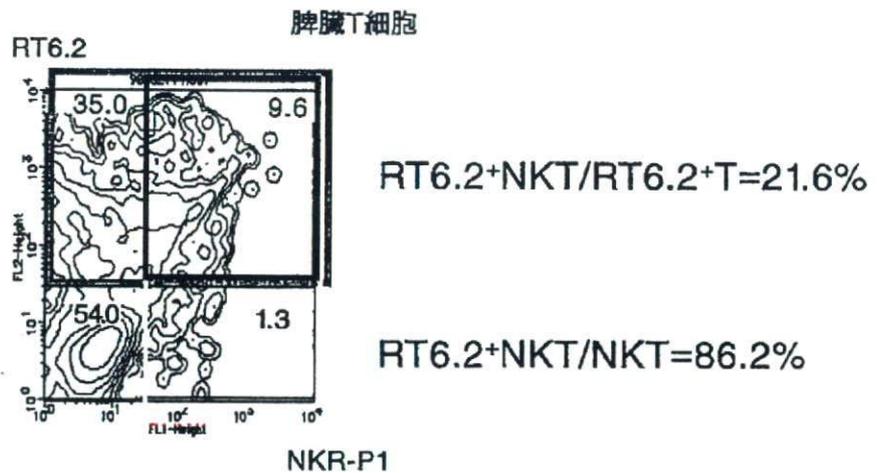


図18.4 膵臓移植後、1型糖尿病非再発ラット脾細胞のフローサイトメトリー(抗接着分子抗体投与)。

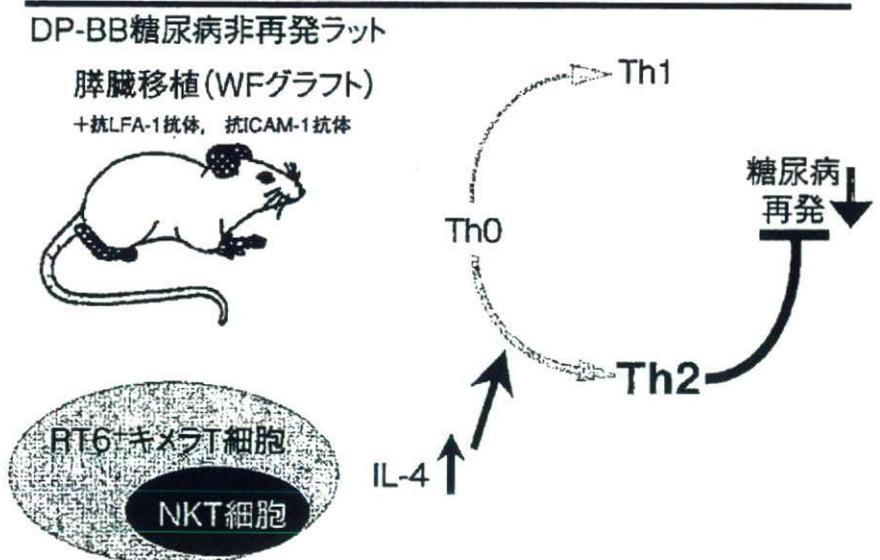


図18.5 1型糖尿病再発制御のメカニズム(仮説)。

## 5 移植臓器に対する免疫寛容誘導 (induction of immunological tolerance)

移植臓器は免疫原性が強いので、免疫寛容を導入することは困難であることはすでに述べた。しかしながら、これまでに臓器移植の生着延長を図るべく、いろいろな試みがなされている。

donor specific blood transfusion (DST) に代表される、ドナー抗原(血液)を投与してレシビエントの免疫応答を変化させる active enhancement は動物実験のみならず、臨床応用(生体腎移植)も行われた。BakerらはMHCが異なる、LEW.1A(RT1<sup>a</sup>)からLEW.1U(RT1<sup>u</sup>)ラットへの移植の系(腎移植、臓器移植)において、DSTの効果を検討した。移植腎は永久生着したが、移植臓器は延長効果を認めなかった<sup>[13]</sup>。一方、LeibelらはLEW(RT1<sup>l</sup>)からWF(RT1<sup>w</sup>)ラットへの臓器移植において、DSTを複数回行うことにより、免疫寛容を誘導することができた<sup>[14]</sup>。以上の方法はいずれもDSTから移植まで一定の期間が必要であり、脳死下での移植には応用できない。そこで、移植と同時にドナー抗原を投与し、手術後に短期間の免疫抑制を併用する方法が検討された。Cookeらはドナー抗原として全血または脾細胞を用い、短期間のCsAと併用すると、移植臓器は著明な移植延長効果を認めたが、移植臓器は延長を認めなかった<sup>[15]</sup>。

Bitter-Suermannらは臓器と同時に脾臓を composite graftとして移植することによって、臓器単独移植より生着延長効果があることを報告した<sup>[16]</sup>。しかしながら、脾臓の合併移植では graft-versus-host disease (GVHD) の可能性がある。Schulakらは免疫抑制剤の使用により制御可能であるとしたが、この効果はドナー・レシビエント間でのMHC disparityによって異なり、weak combination (F344→LEW)では延長効果がみられたが、strong combination (ACI→LEW)ではそうした効果はみられなかった<sup>[17]</sup>。Sakumaらは、DA→LEWのstrong combinationでも、高用量タクロリムスにより臓器合併移植モデルで延長効果が得られたことを報告した<sup>[18]</sup>。さらに、そのメカニズムとして、抗イディオタイプ抗体の関与を示唆している。

次に、T細胞活性化に必須の第二のシグナル(補助刺激シグナル [co-stimulatory signal])をブロックすることにより移植臓器の生着延長を図る方法があ

る。第二のシグナルの主たる経路として、ICAM-1/LFA-1, B7/CD28やCD40/CD40Lがある(詳細は7章参照)。

ICAM-1/LFA-1の経路を各々に対する抗体を用いて、移植臓器に対するアロ免疫応答<sup>[19,20]</sup>および自己免疫応答<sup>[11,12]</sup>を制御する試みが報告された。B7/CD28の経路を選択的にブロックする方法として、CTLA4分子とIgG<sub>1</sub>(CTLA4-Ig)のFc部分との可溶性融合蛋白が用いられ、同種ならびに異種臓器の生着延長効果が得られた<sup>[21,22]</sup>。また、CD40/CD40Lの経路に対しては、ドナー抗原と抗CD40L抗体との併用にて、同種ならびに異種臓器移植で生着延長、寛容が誘導された<sup>[23,24]</sup>。

また、アロ免疫応答はドナーがもち込む“passenger leukocyte”により惹起されるという観点から、passenger leukocyteのなかでも、抗原提示に重要な樹状細胞(dendritic cell, DC)に対して免疫学的操作を加えようとする戦略がある。マウス臓器移植の系で、抗クラスII抗体<sup>[25]</sup>や抗DC抗体<sup>[26]</sup>により、DCを除去して移植する方法や、また、抗クラスII抗体で臓器を灌流して免疫原性を低下させてから臓器を移植することにより、生着延長を図る方法<sup>[27]</sup>が報告されている。

最後に、最近の遺伝子導入の技術により、移植前の臓器保存の間にアロ免疫応答を制御するような遺伝子を直接注入して、移植臓器に発現させる方法が考えられている。CTLA4Ig遺伝子を、アデノウイルスベクターを用いて移植臓器に発現させ、同時に免疫抑制剤と併用することにより移植臓器生着延長がみられた。BNラットをドナー、LEWラットをレシビエントとした全脾十二指腸移植モデルを用い、移植直前にAd.CTLA4Igを経門脈的に投与し、手術後の3日間タクロリムス(FK506)を用いた<sup>[28]</sup>。結果は表18.3に示したように、hAd.CTLA4Igの移植臓器遺伝子導入とFK506の併用により、移植臓器の長期生着効果が認められた。

## 6 おわりに

以上より、本章では移植臓器に対する免疫応答について、アロ免疫応答のみならず、自己免疫応答の両者を制御しなければならないことを主として実験的観点より述べた。実際の臨床の場では、移植臓器機能の低下した病態について、どちらの免疫応答が関与

表 18.3 CTLA4-Ig 遺伝子導入による移植生着延長効果

ドナー	レシピエント	グラフト処理	生存期間(日)	MST
BN	LEW	None	10, 11, 11, 12 12, 13	11.5
BN	LEW	Ad LacZ	10, 10, 11, 13	11
BN	LEW	hAdCTLA4-Ig ( $4 \times 10^9$ pfu)	15, 16, 16, 19	18.3
BN	LEW	FK506	14, 20, 20, 24	19.5
BN	LEW	hAdCTLA4-Ig ( $8 \times 10^9$ pfu)	30, 31, 46, 49, >100 × 2	> 59.3
BN	LEW	hAdCTLA4-Ig + FK506	>106, >108, >156, >186 × 2, >194	> 156

MST: 生存期間中央値。

\*  $p < 0.05$  \*\*  $p < 0.01$  (Student's test)

しているのか、時にその説明に苦慮することを経験する。それぞれの免疫応答制御に関する条件は同じであるとは考えられず、各々の至適条件が存在すると思われる。こうした研究は、臨床からはなかなか見出すことが難しく、小動物を用いた実験系による検討から生まれてくると考えられる。

(伊藤壽記, 島 正幸)

## 参考文献

- Howard JC, Butcher GW (1981) The mechanism of graft rejection and the concept of antigenic strength. *Scand J Immunol* 14:687-691
- Klempnauer J, Womigeit K et al. (1983) Pancreas whole organ transplantation in the rat: differential effect of individual MHC regions. *Transplant Proc* 15:1308-1310
- Klempnauer J, Steiniger B et al. (1987) Effects of the RT1.C region in rat allotransplantation. *Transplant Proc* 19:713-715
- Vogt P, Hiller WF et al. (1992) Differential response of kidney and pancreas rejection to cyclosporine immunosuppression. *Transplantation* 53:1269-1272
- Guymer RH, Mandel TE (1994) A comparison of corneal, pancreas, and skin grafts in mice. A study of determinants of tissue immunogenicity. *Transplantation* 57:1251-1262
- Yamamoto S, Ito T et al. (1994) The rejection mechanism of rat pancreaticoduodenal allografts with a class I MHC disparity. *Transplantation* 57:1217-1222
- Maeda A, Ito T et al. (1998) Difference in immunologic responses between pancreatic and islet transplantation in "low responder" rat combinations with class I MHC disparity. *Transplant Proc* 30: 550-551
- Sutherland DER, Sibley R et al. (1984) Twin-to-twin pancreas transplantation: Reversal and reenactment of the pathogenesis of type I diabetes. *Trans Assoc A Phys* 97:80-87
- Tyden G, Reinholt FP et al. (1996) Recurrence of autoimmune diabetes mellitus in recipients of cadaveric pancreatic grafts. *N Engl J Med* 335:860-863
- Bosi E, Bottazzo GF et al. (1989) Islet cell autoimmunity in type 1 diabetic patients after HLA-mismatched pancreas transplantation. *Diabetes* 38:82-84
- Uchikoshi F, Ito T et al. (1996) Restoration of immune abnormalities in diabetic BB rats after pancreas transplantation. I. Macro-chimerism of donor-graft-derived RT6<sup>+</sup>T cells responsible for restoration of immune responsiveness and suppression of autoimmune reaction. *Transplantation* 61:1629-1636
- Tori M, Ito T et al. (2000) Importance of donor-derived lymphocytes in the protection of pancreaticoduodenal or islet grafts from recurrent autoimmunity. A role for RT6<sup>+</sup>NKR-PI<sup>+</sup>T cells. *Transplantation* 70:32-38
- Bektas H, Jorns A et al. (1997) Differential effect of donor specific blood transfusion after kidney, heart, pancreas, and skin transplantation in major histocompatibility complex-incompatible rats. *Transfusion* 37:226-230
- Leibel BS, Martin JM et al. (1994) Pretreatment with increasing doses of donor pancreas or whole blood induces tolerance to allogeneic pancreatic transplantation. *Transplant Proc* 26:3709-3714
- Cooke JC, McBride JL et al. (1989) A comparison between pancreas and heart allotransplantation after administration of donor-specific antigen and cyclosporine. *Transplantation* 48:15-19
- Bitter-Suermann H, Save-Soderbergh J (1978) The course of pancreas allografts in rats conditioned by spleen allografts. *Transplantation* 26:28-34
- Schulak JA, Englestad KM (1989) Immunologic consequences of combined pancreas-spleen transplantation in the rat. *J Surg Res* 47:52-58
- Sakuma Y, Uchida H et al. (2001) High dose tacrolimus and lengthy survival of the combined rat pancreas/spleen graft in a high-responder combination. *Transpl Immunol* 9:37-42
- Uchikoshi F, Ito T et al. (1995) Anti-ICAM-1/LFA-1 monoclonal antibody therapy prevents graft rejection and IDDM recurrence in BB rat pancreas transplantation

- Transplant Proc 27:1527-28
20. Kawabe A, Kimura T et al. (1996) anti-adhesion(anti-ICAM-1 and anti-LFA-1)therapy in a rat pancreas transplantation model Transplant Proc 28:1808-1811.
  21. Tran HM, Nickerson PW et al. (1997) Distinct mechanisms for the induction and maintenance of allograft tolerance with CTLA4-Fc treatment. J Immunol 159:2232-2239
  22. Lenschow DJ, Zeng Y et al. (1997) Long-term survival of xenogeneic pancreatic islet grafts induced by CTLA-4Ig. Science 257:789-792
  23. Parker DC, Greiner DL et al. (1995) Survival of mouse pancreatic islet allografts in recipients treated with allogeneic small lymphocytes and antibody to CD40 ligand. Proc Natl Acad Sci USA 92:9560-9564
  24. Kenyon NS, Hatzipetrou M et al. (1999) Long-term survival and function of intrahepatic islet allografts in rhesus monkeys treated with humanized anti CD154. Proc Natl Acad Sci USA 96:8132-8137
  25. Faustman D, Hauptfeld V et al. (1981) Prolongation of murine islet allograft survival by pretreatment of islets with antibody directed to Ia determinants. Proc Natl Acad Sci USA 78:5156-5159
  26. Faustman D, Steinman RM et al. (1984) Prevention of rejection of murine islet allografts by pretreatment with anti-dendritic cell antibody. Proc Natl Acad Sci USA 81:3864-3868
  27. Lloyd DM, Cotler SJ et al. (1989) Pancreas-graft immunogenicity and pretreatment with anti-class II monoclonal antibodies. Diabetes 38:104-108
  28. Miao G, Ito T et al. (2004) Development of donor-specific immuno-regulatory T cells after local CTLA4Ig gene transfer to pancreatic allograft. Transplantation 78:59-64, 2004

# 28章 膵島移植

## 1 はじめに

膵島移植は、糖尿病専門医の指導によっても血糖コントロールが不良な症例で、生活の質の低下のみならず重症低血糖発作あるいはケトアシドーシスなどをきたす1型糖尿病あるいは難治性糖尿病に対して行われている。このような糖尿病に対する移植医療としては、現在、膵臓移植と膵島移植が行われている。膵島移植は膵臓を構成する細胞のなかから膵島のみを取り出して移植する治療法で、経皮経肝的に門脈を穿刺してカテーテルを留置し局所麻酔下に移植するため、膵臓移植に比し低侵襲の治療法である。

## 2 膵島移植の歴史(図 28.1)と世界の現況

Bantingにより1922年にインスリンが発見される以前、BestとCollipらはすでに膵臓の抽出物に糖尿病を解決し得る因子が含まれていることを認識していた。Williamsらは、1894年にヒツジの膵臓の一部を糖尿病ケトアシドーシスに罹患した15歳の少年の皮下に移植したが、この異種グラフトは直ちに拒絶されてしまった<sup>[1]</sup>。1921年のインスリン発見以降は、インスリンによる治療努力が続けられていたが、1966年には最初の膵臓移植が行われ、1965年にはMoskalewskiらにより膵島分離が行われた。その後、膵島分離にコラゲナーゼ消化が用いられるようになり<sup>[2]</sup>、1972年にLacyらはラット膵島移植モデルで膵島を腹腔内あるいは筋肉内に移植することにより血糖を制御し得ることを示し

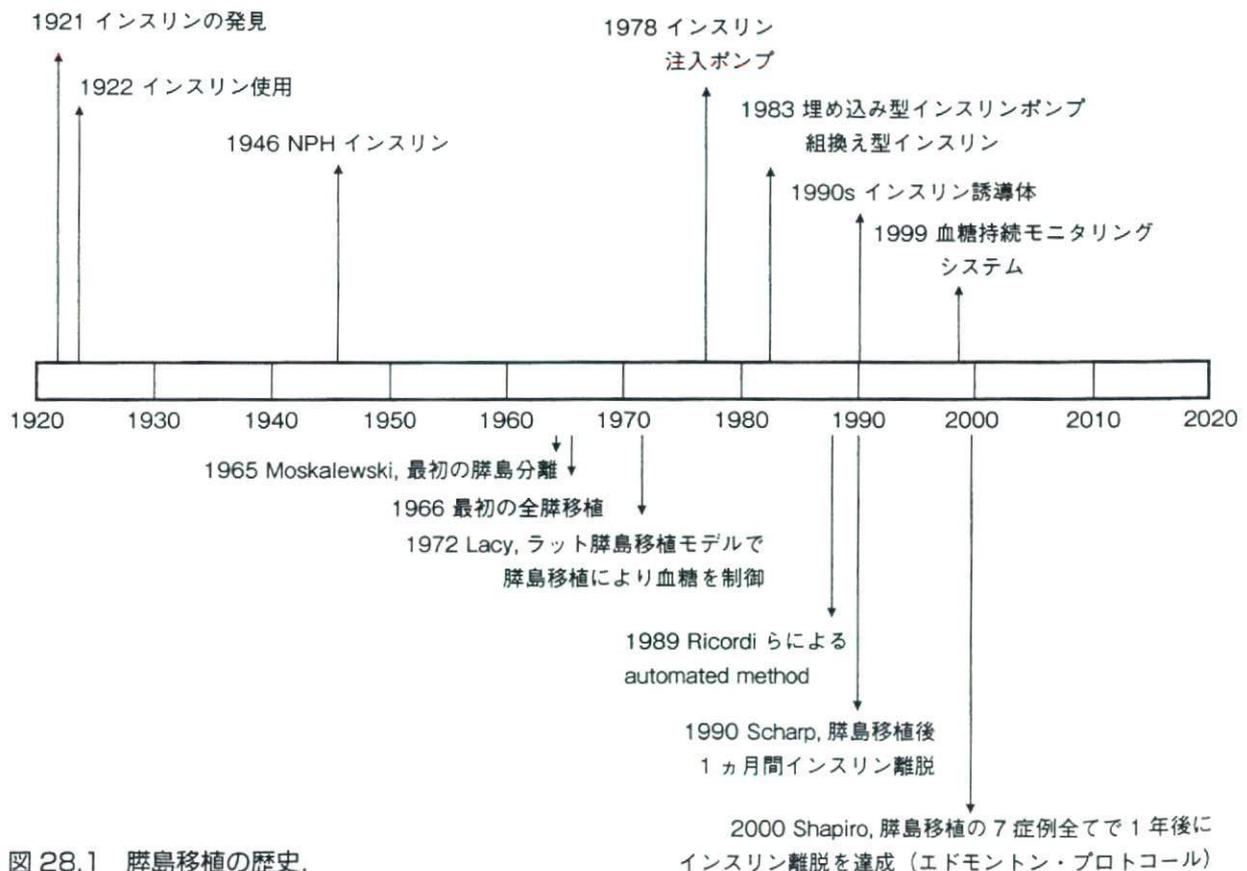


図 28.1 膵島移植の歴史.

た<sup>[3]</sup>。この報告以後、1型糖尿病の制御を目指した数々の実験的検討がなされ、1990年にScharpらは1型糖尿病症例に対する膵島移植後1ヵ月間のインスリン離脱例を報告した<sup>[4]</sup>。しかし、1990年以降の10年間に移植された267例の報告では移植1年後のインスリン離脱率は8.2%であった<sup>[5]</sup>。

2000年にShapiroらは、膵島移植を行った7症例全てにおいて1年後にインスリン離脱が達成されたと報告した<sup>[6]</sup>。従来の成績を大きく上回るこの膵島移植のプログラムはいわゆるエドモントン・プロトコルと呼ばれ、①対象を腎症発症前の1型糖尿病に限定し、無自覚低血糖(hypoglycemia unawareness)が頻発あるいは血糖が非常に不安定な症例を対象とし、②免疫抑制剤としてステロイドを使用せず、抗IL-2受容体(CD25)モノクローナル抗体であるダクリズマブを用いた導入療法とし、維持療法としてシロリムス(SRL)とカルシニューリン阻害剤であるタクロリムス(TRL)を低用量で使用、③膵島はウシ血清などの異種蛋白を含まないヒトのアルブミンを用いて処理し、④レシピエントの体重当たり10,000 IEs(islet equivalents)/kg以上の膵島を移植するため、1症例当たり2回から3回の移植を行う、などの特徴を有していた<sup>[6]</sup>。その後の多施設共同研究でもエドモントン・プロトコルの移植早期におけるインスリン離脱率の再現性は確認されている<sup>[7,8]</sup>。

これらのプロトコルにおける膵島分離ではRicordiらが開発した消化チャンパーと回路を組み合わせてコラゲナーゼ液を灌流するautomated method<sup>[9]</sup>が使用されている(図28.2)。この方法ではコラゲナーゼと膵臓をガラスあるいはステンレス製ボールの入ったステンレス製のチャンパーに500 μmのメッシュスクリーンをつけ、緩やかな振動を加えつつ消化し、経時的に回路内のサンプリングを行いながら、適切な時期に消化を停止する<sup>[10]</sup>。今日ではRicordi変法は大動物とヒトにおける膵島分離法として全世界で用いられている<sup>[10]</sup>。

分離された膵島は、経門脈的に肝臓内へ移植される。肝以外にはレシピエントの脾臓内への移植も行われたが、これは脾梗塞、脾破裂あるいは胃穿孔などの合併症をきたした<sup>[11]</sup>。門脈内へ膵島移植を行う利点として、肝はインスリンが機能する主たる場所であること、生理的にもインスリンは直接門脈内へ分泌されていること、などがあげられる。注入時には門脈血栓形成を予防するために膵島浮遊液120 ml当たりヘパリン500 Uを併用し、さらに門脈圧をモニターし、圧の上昇を認めた場合は膵島の輸注を中止する<sup>[12,13]</sup>。移植時の合併症としては、出血、門脈血栓、胆汁瘻、気分不快、肝酵素の一過性上昇、動静脈瘻などが報告されている。超音波ガイド下門脈穿刺では穿刺路にコイルとgelform、あるいはmicrofibrillary collagenなどを留置あるいは注入

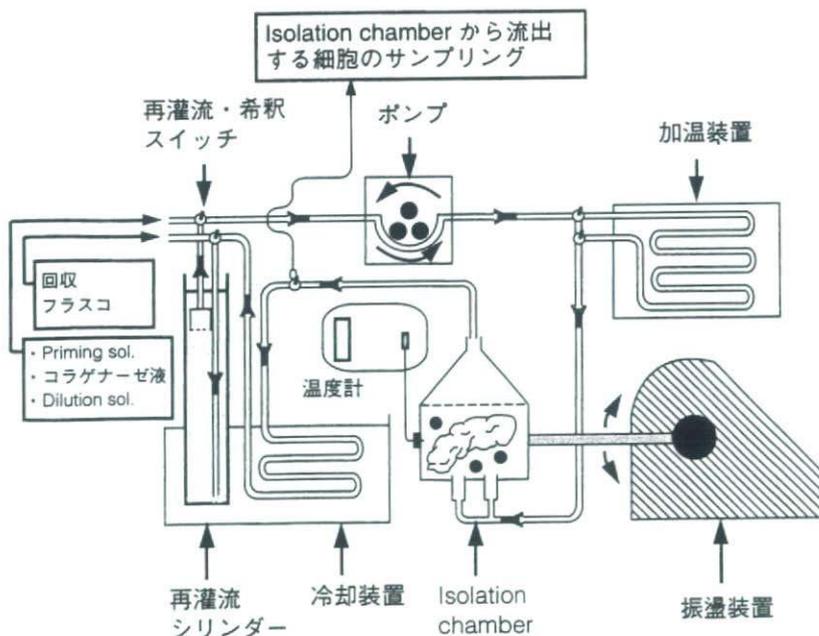


図 28.2 automated islet isolation. 文献 [9] より改変.

することにより出血を予防している。

移植後は移植膵島の負荷軽減のためにインスリンが補充投与される<sup>[14]</sup>。膵島移植後は、インスリン補充量を徐々に減少させるが、移植直後には移植膵島の破壊によりインスリンが放出され低血糖となる場合もあるため、膵島の生着により血糖値が安定するまでは注意深い血糖管理が必要となる。

エドモントン・プロトコールでは先にも述べたが、ステロイドを使用せず、ダクリズマブとSRLおよびTRLを使用する<sup>[6,8]</sup>。抗CD25抗体であるダクリズマブは移植前後にそれぞれ1回ずつ投与し、SRLは0.2 mg/kgで開始し、0.1 mg/kgで維持する。TRLは1~2 mgを1日2回で開始する。TRLのトラフレベルは3~6 ng/ml、SRLのトラフレベルは12~15 ng/mlである。SRLとTRLの副作用としては、吐き気、口腔内潰瘍、下痢、便秘、倦怠感、貧血、白血球減少、浮腫、振戦、アクネ、高血圧、高脂血症などがある。タクロリムスの血中濃度が上昇すると、腎機能障害や振戦などの毒性を示す。長期的な免疫抑制剤投与により、感染症や癌の発生などの危険性もある。臓器移植や骨髄移植後ではPTLD (post transplantation lymphoproliferative disease) も報告されているが、いまのところ膵島移植後における本疾患の報告はない<sup>[15]</sup>。

膵島移植は近年、急速な進歩を示しているが、移植後数年を経ると多くの症例で移植膵島機能が低下し、インスリン治療の代替手段には至っていない

(図28.3)<sup>[16]</sup>。しかし、重症低血糖発作からの回避はCペプチド陽性症例では長期間認められており、カナダではすでに保険医療として認められ、米国でもNIHが1型糖尿病患者の治療に用いられるヒト膵島を生物医薬品として承認すべく、Clinical Islet Transplant Consortiumによる検証が計画されている<sup>[17,18]</sup>。移植膵島機能の低下の原因は十分に明らかにされていないが、急性・慢性拒絶反応のみならず自己免疫疾患の再発、薬剤などによる移植膵島の機能不全、移植膵島の疲弊などによる複合的な原因が考えられる。これらに対する今後の展開は後にまとめて述べる。

### 3 我が国における膵島移植

膵・膵島移植研究会は日本移植学会のもとで臨床膵島移植の準備を進めていたが、エドモントン・プロトコールの成績をふまえ、膵島分離直後に移植を施行する新鮮膵島移植を行うこととし、2004年から臨床膵島移植を開始した。我が国の膵島移植は主として心停止ドナーを対象とするという特徴がある。

我が国における膵島移植は組織移植に分類され、日本組織移植学会の定めるガイドライン<sup>[19]</sup>を遵守し、さらに膵・膵島移植研究会膵島移植班が定めた膵島移植実施マニュアル<sup>[20]</sup>に従って行われている。

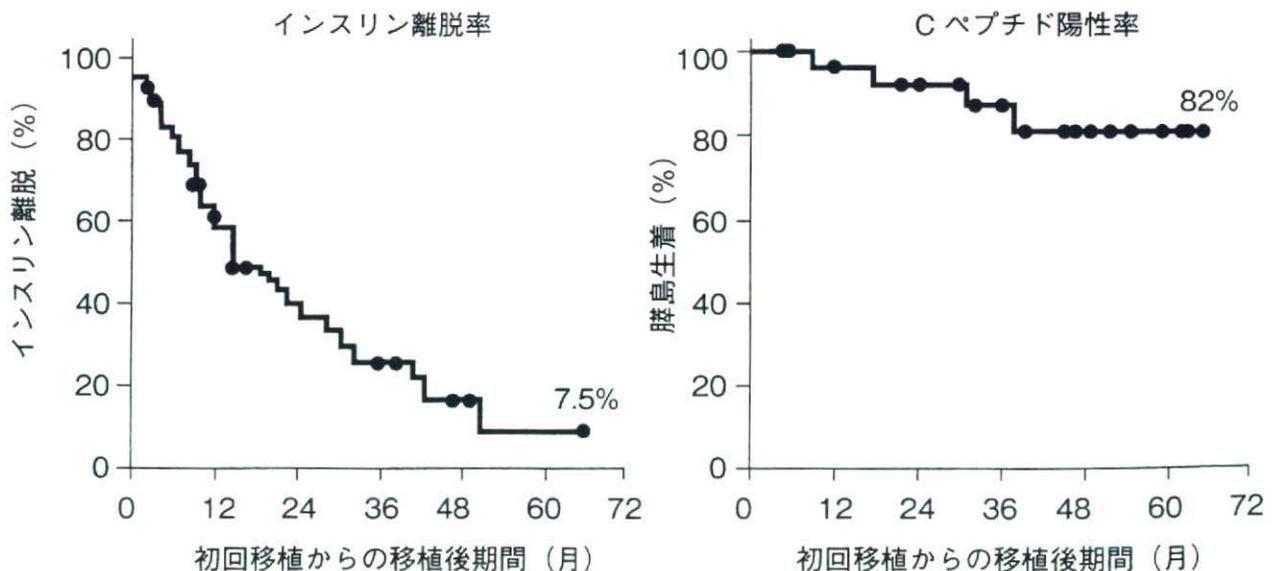


図28.3 エドモントン・プロトコールによるインスリン離脱率とCペプチド陽性率。文献[16]より改変。

本マニュアルは臨床実施上の問題点を解決しつつ改訂作業が進められ、2006年9月には第3版が編集された<sup>[20]</sup>。

### 3.1 膵島移植施設認定

膵・膵島移植研究会では、実際に膵島の分離、凍結、移植が可能であることを確認するために倫理委員会の承認、GMP基準に準拠した施設であることなどの施設基準を設けている<sup>[20]</sup>。これらの要件を満たしていることについて膵・膵島移植研究会内の施設認定委員会で検討し、施設認定を行っている。これまでに新鮮膵島分離・凍結・移植施設として、北から東北大学、福島県立医科大学、国立千葉東病院、京都大学、神戸大学、福岡大学の6施設が認定され、2007年4月からはさらに大阪大学が加わった。

### 3.2 膵島移植実施体制

現在、我が国で行われている膵島移植では、分離直後に膵島移植を施行する新鮮膵島移植が優先されている。このため、膵臓摘出から移植までの時間を短縮することを目的として全国を分離・凍結施設を中心とするブロック単位に分け、各ブロックで膵臓摘出、分離（凍結）、移植を行うこととしている。施設認定を受けた各施設は膵・膵島移植研究会内のシェアリング委員会における協議決定に従い、その

施設が存在する地域（県）および隣接する地域を担当する形で地域を分担しブロック体制を形成している。レシピエント候補者はこれらの施設のなかから複数の施設にレシピエントとして登録することが可能であるが、2006年9月以降は移植後に十分なフォローアップ体制をとるために、初回移植後の2回目および3回目の移植は初回移植を実施された施設で受けることとなった。膵島移植のレシピエント登録の基準を表28.1に示す。

### 3.3 ドナーおよびレシピエント適応基準

ドナーの適応としては、感染症などを除外し<sup>[20]</sup>、さらに年齢75歳以下、温阻血時間30分以内などの制限を加えている<sup>[20]</sup>。海外では膵島移植に用いられる膵臓も脳死ドナーから摘出されているが、我が国では膵島移植は組織移植として位置づけられ、心停止後の提供が可能であることから、脳死ドナーから提供された膵臓は膵臓移植に供され、膵島移植を目的とした膵提供は主として心停止ドナーから行われている。ドナー発生時には、エドモントン・プロトコールに準じたレシピエント選択基準に従い、レシピエントが選択される。糖尿病腎症に関して当初は、免疫抑制剤の副作用による腎機能の悪化を考慮してIIIA期までを適応としていたが、2006年9月から腎移植後膵島移植（islet after kidney transplantation, IAK）を認めることになり、腎移

表 28.1 膵島移植レシピエント適応基準<sup>[19]</sup>

#### 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、膵島移植について説明し、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
- (5) 発症5年以上経過していること

#### 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(BMI 25以上)
6. 未処置の網膜症(ただし失明例は除く)
7. その他移植に適さないもの

植後6ヵ月以上経過しクレアチニン1.8 mg/dl以下で直近6ヵ月の血清クレアチニンの上昇が0.2以下、ステロイド内服量10 mg/dl以下、などの基準を満たす症例を対象し、免疫抑制剤は原則として腎移植後に使用している薬剤を用いることとした<sup>[20]</sup>。

### 3.4 膵島分離・移植と免疫抑制法

膵島分離法の詳細については各実施施設がそれぞれ独自の工夫を行っている。膵島移植の基準としては①膵島量 $\geq 5000$  IEs/kg (レシピエント体重)、②純度 $\geq 30\%$ 、③組織量 $< 10$  ml、④viability $\geq 70\%$ 、⑤エンドトキシン $\leq 5$  EU/kg (レシピエント体重)などを設けており、この基準を満たさない場合は、原則として凍結保存としている。膵島移植は局所麻酔下に超音波ガイド下門脈穿刺を行い、門脈内へカテーテルを挿入し、膵島を門脈内へ注入することにより行われる。術後免疫抑制は、抗IL-2受容体抗体であるバシリキシマブ、mTOR阻害剤であるSRLおよび低用量のTRLを組み合わせた方法が採用されている。

## 4 成績

2007年3月までに64回の膵島分離が行われ、1例の脳死ドナーを除く63回は心停止ドナーからの提供であった。このうち33回で移植の条件を満たしていたため17症例(男性5例、女性12例)に対して膵島移植が行われた(移植率:移植回数/分離

回数 $\times 100 = 52\%$ )。移植例と非移植例ではドナーの年齢、温阻血時間には有意差を認めなかったが、冷阻血時間は移植例で有意に短かった(表28.2)<sup>[21]</sup>。膵島移植手技に伴う合併症は腹腔内出血1例(0.03%)のみで、比較的安全に施行されている。

膵島移植は3回までとしており、これらの17例に対する移植回数は1回7名、2回4名、3回6名であった。それぞれの移植後1ヵ月における、インスリン必要量とHbA<sub>1c</sub>値は術前に比して減少し、術前陰性であったCペプチドは移植後に陽性となった(表28.3)<sup>[21]</sup>。これらの症例のうち、2回移植の1例と3回移植の2例の計3症例でインスリン離脱を認めた。総移植膵島量は、インスリン離脱例では非離脱例に比して有意に高値を示した(離脱例:1,350,627 $\pm$ 456,973 IEQ, 非離脱例:709,318 $\pm$ 362,904 IEQ,  $p = 0.02$ )。

移植症例には腎移植後膵島移植の2症例が含まれ、いずれもインスリン投与量の減量を認め経過良好である。これらの症例では膵島移植当日と術後4日目にバシリキシマブを併用するものの、基本的な免疫抑制法は腎移植に用いられている方法を継続しており、膵島移植に伴う移植腎機能の低下には細心の注意が払われている。

2006年に報告されたエドモントン・プロトコールによる膵島移植の多施設共同研究ではbasal Cペプチドレベルが0.3 ng/ml以上ある場合を膵島生着としている<sup>[6]</sup>。同基準を本邦における症例にあてはめると、初回移植後6ヵ月、1年、2年時における累積膵島生着率はそれぞれ86.5%、78.7%、62.9%であった(図28.4)<sup>[21]</sup>。

表 28.2 膵島分離・移植にかかわる因子<sup>[20]</sup>

	非移植症例(n = 31)	移植症例(n = 33)	
ドナー年齢(歳)	42.5 $\pm$ 17.4	39.1 $\pm$ 16.0	N.S.
温阻血時間(分)	9.0 $\pm$ 9.6	6.0 $\pm$ 0.6	N.S.
冷阻血時間(分)	345 $\pm$ 96	286 $\pm$ 113	$p = 0.03$
分離膵島量(IEQ)	101,534 $\pm$ 74,297	423,707 $\pm$ 157,320	$p = 0.0001$

表 28.3 膵島移植前後のインスリン必要量、Cペプチド、HbA<sub>1c</sub>の推移<sup>[20]</sup>

	術前	1回目後	2回目後	3回目後
インスリン必要量(U/日)	39.7 $\pm$ 18.0	24.2 $\pm$ 10.9	21.4 $\pm$ 11.5	21.0 $\pm$ 7.7
basal Cペプチド(ng/ml)	0	0.54 $\pm$ 0.38	0.43 $\pm$ 0.24	0.75 $\pm$ 0.44
HbA <sub>1c</sub> (%)	8.8 $\pm$ 1.8	7.5 $\pm$ 1.4	6.5 $\pm$ 1.4	6.2 $\pm$ 1.2

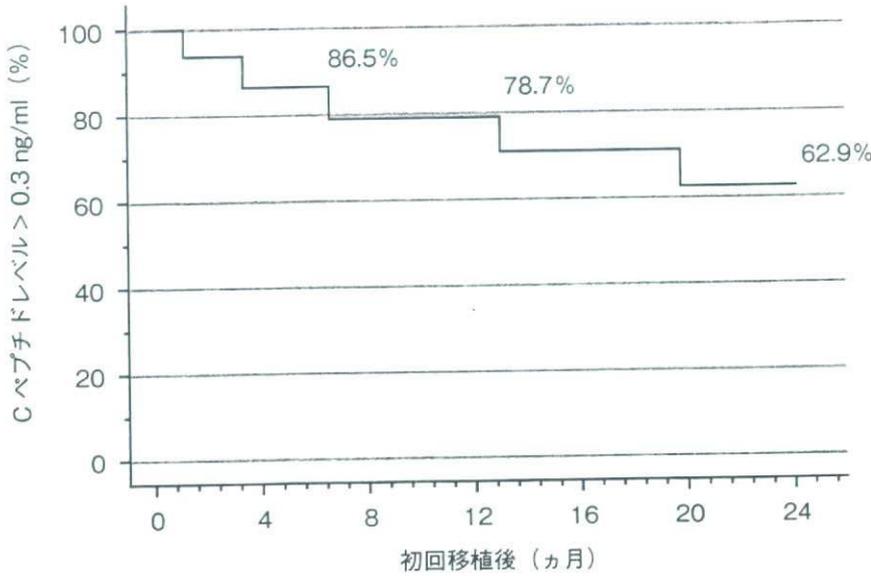


図 28.4 膵島生着率. 文献[20]より引用.

## 5 膵島移植にかかわる問題点と今後の展開

膵島移植では移植膵島の生着までに様々の要因により膵島量が減少する. その要因としては, 膵島分離における消化のストレス, 移植前の培養, 移植直後の急性炎症反応 (IBMIR, 後述), 急性拒絶反応, 慢性拒絶反応などが考えられている (図 28.5). また, 膵島移植の効果とその成績から, 現行では確立された医療と考える膵臓移植の成績も考慮し, その適応の決定には慎重でなければならない. 膵島分離から移植, 生着の各段階において, これまでの知見と今後の展開について述べる.

### 5.1 膵島分離法

小動物による膵島分離の検討から, 膵消化過程における消化酵素の濃度と消化時間および温度などは膵島収量に影響を与え, 未消化から至適な時期を経て過消化状態に至ることが明らかにされている (図 28.6) [22]. ヒト膵島分離ではさらに保存状態も異なり, また個体差もあるため至適消化時期の判定が難しいことから, 消化回路中の消化組織を検鏡し, 消化の終了点を決定する方法がとられている [9].

ヒト膵島分離における問題点の1つは消化酵素の活性が低いことであったが, Roche社により開発されたLiberase HIの導入により従来の酵素に比してロット間の活性の格差は小さくなり, 膵島収量

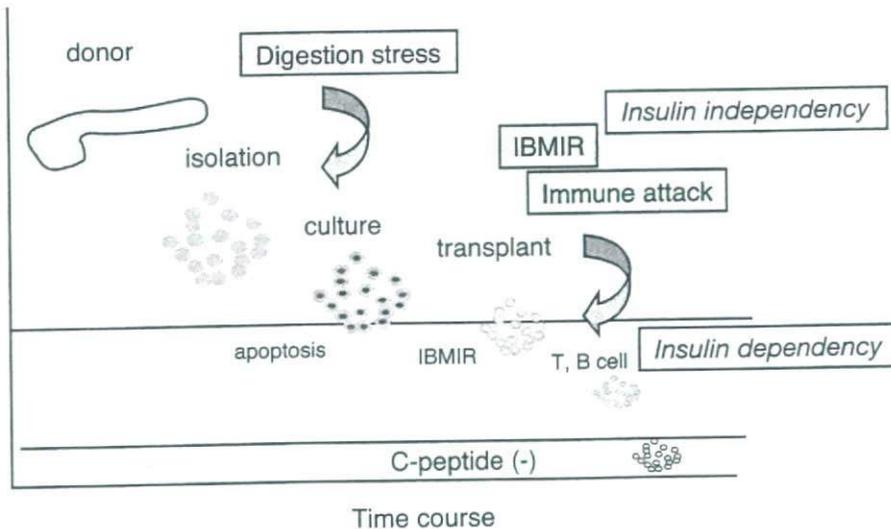


図 28.5 膵島量減少の要因.

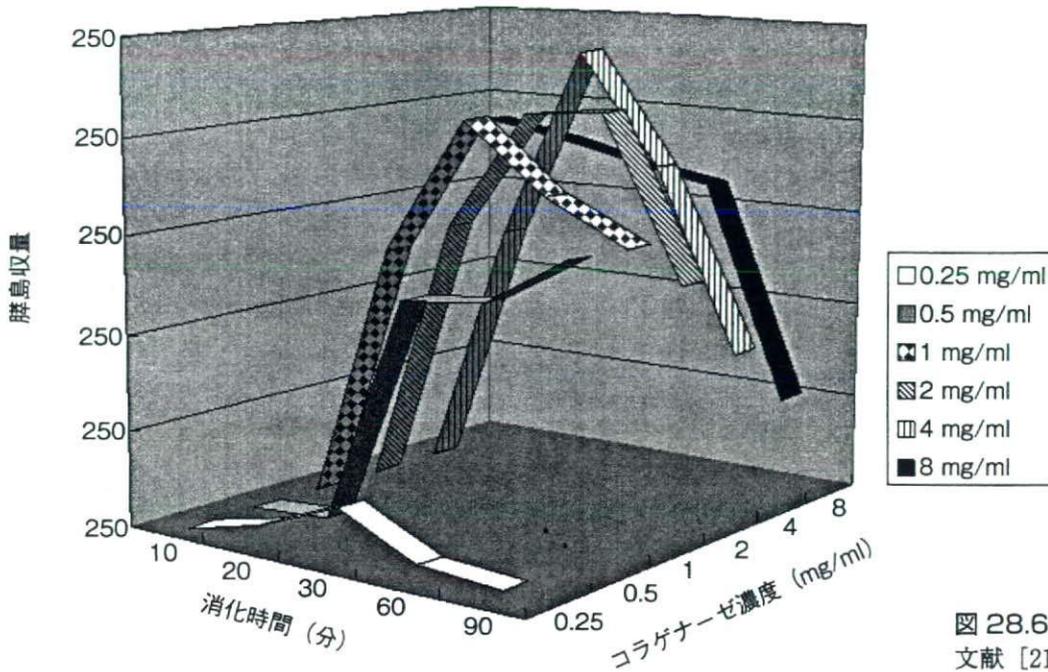


図 28.6 膵島分離.  
文献 [21] より改変.

が増加した<sup>[23]</sup>。これらの酵素は非常に純度が高く、エンドトキシン含有量も少ない。成分は、コラゲナーゼ I 型と II 型および thermolysin の混合物である。ヒト膵島分離に用いられる酵素としては、他に SERVA 社の Collagenase NBI と Neutral Protease がある<sup>[24]</sup>。

膵島分離のための膵保存には、これまで UW 液 (University of Wisconsin solution) が用いられてきたが、人工血液として開発された酸素の担体である PFC (perfluorochemical) を UW 液とともに用いる神戸大学の黒田らによって開発され二層法が広く用いられている (11-I-ii 章参照)<sup>[25]</sup>。この方法は UW 液と酸素化した PFC の境界部に膵グラフトを保存する方法で、UW 液による単純浸漬保存に比し膵グラフトのエネルギーレベルが維持され、膵島収量を増加させる<sup>[25]</sup>。Matsumoto らは、肺移植における膵グラフトの保存液として開発された ET-Kyoto 液にウリナスタチンを加えた Modified ET-Kyoto solution と二層法を組み合わせた膵保存法により、さらに冷保存傷害を軽減し得ることを報告した<sup>[26]</sup>。また、膵島純化の過程では、1991 年に導入された Euro-Collins 液と Ficoll の組み合わせにより、外分泌組織の浮腫が軽減され膵島収量が増加した<sup>[27]</sup>。最近では、さらに Kyoto 液-Iodixanol による分離の有用性が報告されている<sup>[26]</sup>。

一方、ドナーの状態によっても膵島収量は影響

を受ける。Nano らは膵島の収量、純度、機能などに影響を及ぼす因子を多施設共同研究による膵グラフト 437 例の検討により検討し、ドナーの年齢、BMI、膵重量などが収量と関連し、消化過程ではコラゲナーゼ活性が重要であることを指摘した<sup>[28]</sup>。ドナーの年齢と BMI との関連はその他の報告でも指摘されており、ドナーの年齢あるいは BMI が高いほど膵島収量が良好であるとされている<sup>[29]</sup>。

分離膵島の viability と機能の評価も重要な問題である。通常、膵島評価法としては純度と数および染色による細胞膜の安定性など評価されており、さらに糖負荷によりインスリン分泌能を評価する static incubation assay がある<sup>[10,30]</sup>。SI (stimulation index) は 2.8 mM グルコースを含有する培養液中における膵島のインスリン分泌量を基準とし、20 mM グルコース中におけるインスリン分泌量をその基準量で除した比として表現される。移植膵島の SI は 2~4 程度が標準値とされている<sup>[30]</sup>。しかし、移植前膵島の機能評価として標準となる指標はなく、今後の検討を要する。

## 5.2 膵島の生着と拒絶反応マーカー

膵島移植直後の自然免疫系による膵島の破壊も重要な問題である。移植直後に起こる IBMIR (instant blood-mediated inflammatory response) あるいは

ストレス誘導性のアポトーシスなどにより50～70%の膵島が破壊されると考えられている<sup>[31, 32]</sup>。KorsgrenらはIBMIRにより移植膵島から血小板の凝集と活性化を引き起こす多量のTF (tissue factor) が放出されることを見出した<sup>[33-35]</sup>。TFはさらに凝固系・補体系カスケードを活性化し、顆粒球と単球の浸潤により膵島を破壊する<sup>[36, 37]</sup>。TFとともにこれらの反応を起こす因子としてケモカイン、特にMCP-1 (monocyte chemoattractive protein-1) が報告されている<sup>[38]</sup>。

IBMIRを制御し得る薬剤としては、低分子デキストラン硫酸、ニコチンアミド、メラガトラン、リソフィリン (lisofylline) などが注目されている<sup>[34, 39-41]</sup>。さらに抗アポトーシスペプチドとしての抗カスパーゼ阻害ペプチドであるIAP (inhibitor of apoptosis protein) ファミリー、あるいはEGF (epidermal growth factor)、ガストリン、GLP-1 (glucagon-like peptide-1)、exendin-4などは移植膵島の生着を促す可能性がある<sup>[42-45]</sup>。Yasunamiらは炎症誘発性サイトカインであるIFN $\gamma$ に対する抗体と抗TNF- $\alpha$ 抗体および抗IL-1 $\beta$ 抗体を投与することによりマウス同種膵島移植の系で膵島100個の移植により血糖を正常化し、さらにドナーマウス1匹からの膵島移植によりレシピエントマウス2匹の血糖を正常化し得ることを明らかにした<sup>[46]</sup>。このように移植膵島の減少を抑制し生着を促進することにより、少数の膵島でインスリン離脱を達成し得る可能性があり、今後の発展が期待される。

拒絶反応のマーカーとして、膵島移植後には血糖値、Cペプチドレベルなどをモニターしているが、これらに変化する時期には拒絶反応は完成しており早期診断には有用ではない。慢性拒絶反応をその初期において診断する方法を確立することは重要である。最近ランタニド、マンガンなどのMRI造影剤、グリブライド誘導体、D-マンノヘプツロースなどの $\beta$ 細胞特異的な抗体または薬剤を用いたPETなどによる $\beta$ 細胞の可視化技術が報告されている<sup>[47]</sup>。

### 5.3 免疫抑制と免疫寛容

アレムツズマブ (Campath-1H) は抗CD52抗体でリンパ球数を減少させCD45経路を介してT細胞の活性化を抑制する。ヒト化抗CD3抗体はミネソタ大学のプロトコールで使用され、単一ドナーからの1回の移植によるインスリン離脱を実現し

た<sup>[48]</sup>。

副刺激経路としてはCD28とCD40L (CD40 ligand, CD154) などが注目されている。このうち抗CD40L抗体はサルにおいて膵島の生着を延長し、臨床第I相試験が行われたが、予測されなかった重篤な血栓症による死亡例を認めたため、臨床応用はされていない<sup>[49]</sup>。一方、CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen-4) -IgあるいはLEA29Y (ベラタセプト) などの副刺激阻害剤はCD80とCD86に結合してCD28を介する副刺激経路を阻害するが、腎移植ではすでに急性拒絶反応がシクロスポリンと同等に抑制されることが報告されている<sup>[50, 51]</sup>。

FTY720はいくつかのケモカイン経路を介して胸腺やリンパ節からのリンパ球遊走を阻害する薬剤で、膵島移植ではサルの同種移植の系でバシリキシマブおよびエベロリムスとの併用により移植した5頭中4頭で6ヵ月以上インスリン離脱を得ており<sup>[52]</sup>、ブタからサルの異種移植の系でもバシリキシマブ、抗CD154抗体、エベロリムス、レフルノミドとの併用により100日以上インスリン離脱を示している<sup>[53]</sup>。

免疫寛容を実現する方法が確立されれば、生涯にわたる免疫抑制剤内服の必要がなくなり、免疫抑制剤の副作用などから開放される<sup>[54]</sup>。したがって、膵島移植のみならず臓器移植にとって重要な課題である。ドナー特異的な免疫寛容の導入に成功すると、単なる生着とは異なり、同一ドナーからの再移植グラフトを拒絶することなく安定した生着を得ることができる<sup>[55]</sup>。動物実験ではこのようなドナー特異的な免疫寛容により同一ドナーからのグラフトを受け入れることが示されているが<sup>(図28.7)</sup><sup>[56, 57]</sup>、臨床例でも同一ドナーから骨髄と腎の提供を受けた腎移植症例で免疫抑制剤が必要なくなった症例が報告されている<sup>[58]</sup>。今後、ヒト膵島移植でも免疫寛容誘導の実現が望まれる。

### 5.4 膵島移植の成績からみた移植の適応

インスリン離脱は1型糖尿病に対する治療としての膵島移植の最終目標であるが、血糖の不安定な1型糖尿病症例ではインスリン離脱は得られなくても、内因性インスリンが分泌されることにより血糖の調節性は著明に改善し低血糖発作からも解放される。エドモントンで膵島移植を受けた47症例で

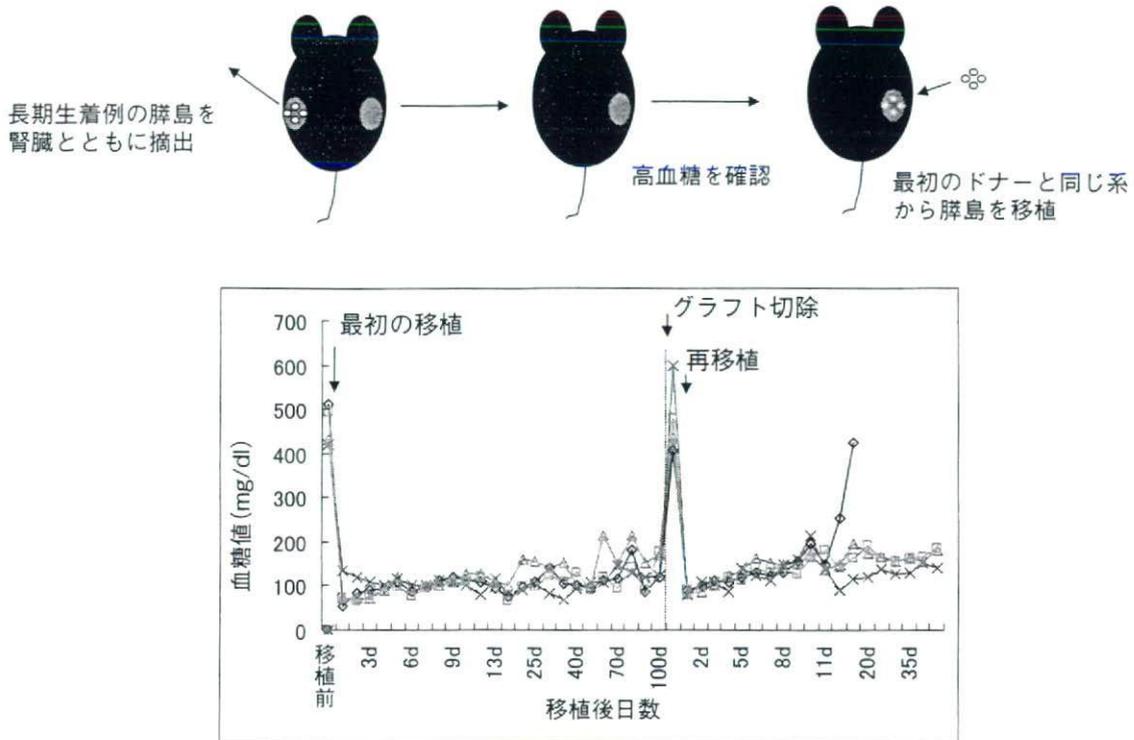


図 28.7 長期生着例に対する膵島の再移植. 文献 [56] より改変. カラー口絵参照.

は移植5年後のインスリン離脱は7.5%であったがCペプチド陽性率は82%であり、移植膵島が機能している症例ではHbA<sub>1c</sub>値の安定化が得られており<sup>[6, 16]</sup>、血糖の不安定性の指標であるHYPOスコアとLI (lability index) は、膵島移植後には有意に低値を示し、βスコアも改善を示している<sup>[59, 60]</sup>。

膵島移植は他の移植医療と同様に免疫抑制剤を使用せざるを得ないため、個々の症例の血糖制御が致死的な状態にあるか否かに基づき、慎重に適応を判断する必要がある。低血糖については第三者の介助を必要とした場合を高度の低血糖とし、神経症状や自律神経症状などの糖尿病合併症の有無が考慮されている。血糖の不安定性はM値、MAGE値、LIなどにより評価されるが、臨床症状を反映させる点においてLIは優れた指標で、膵島移植の効果判定の指標としても有用である<sup>[58, 61-64]</sup>。

膵島移植は、糖尿病腎症のためすでに腎移植を受けた症例に対しても行われている<sup>[65]</sup>。このような腎移植後膵島移植ではすでに免疫抑制剤を使用しているため、新たに免疫抑制を開始する必要がある膵島単独移植に比して、レシピエントのストレ

スは少ないと考えられ、CITR (Collaborative Islet Transplant Registry) による2007年の報告でも腎移植後膵島移植は膵島単独移植と短期的にはほぼ同等で、長期的にはやや良好な成績を示している<sup>[66]</sup>。小児症例に対する移植の適応はいまだ明らかではない。Hathoutらはすでに何らかの免疫抑制を受けているか、あるいは低血糖による生命の危険性がある場合は、膵島移植の適応とすべきであると述べている<sup>[67]</sup>。しかし、移植膵島の小児の発達に伴う増殖の有無、思春期における内薬コンプライアンスの予想、など小児特有の問題点に加え、免疫抑制剤による催奇形性の問題も軽視できない<sup>[67]</sup>。

また、自家膵島移植は慢性膵炎による膵全摘術あるいは亜全摘術症例を対象とし、切除膵から膵島を分離して移植する方法である<sup>[68, 69]</sup>。自家移植の成績は同種移植に比して良好であるが、このような成績の相違の原因としては、自家移植では免疫抑制剤の膵島毒性あるいは自己免疫機序による移植膵島の破壊などを受けないという可能性が考えられている。

## 5.5 ドナー不足の問題

エドモントン・プロトコールでは、レシピエント1人に対して2～3回の膵島移植を行っていたが、Heringらは抗CD3抗体を併用した免疫抑制により、one donor-one recipientの組み合わせの8例全てで1回の膵島移植によりインスリン離脱を達成し、そのうち5名で1年後もインスリン離脱状態を維持したことを報告した<sup>[47]</sup>。また、ドナー不足に対するもう1つの解決手段として考えられている生体膵島移植は、ミネソタ大学のSutherlandにより開始されたが、成績は不良であった。京都大学のグループは2005年に<sup>[70, 71]</sup>、ドナーの膵体尾部から408,144 IEsの膵島を分離し、純化せず新鮮な状態で移植した。これによりレシピエントは術後22日でインスリン離脱、37日後の糖負荷試験でも正常型を示し、ドナーの耐糖能も良好であった。レシピエントの基礎疾患は慢性膵炎で、自己免疫機序を背景とする1型糖尿病ではないが、本報告が世界最初の成功例である。ドナー選択を厳格に行う必要があるが、生体膵島移植は死体膵島移植に比してよりHLAの一致した、循環動態の安定したドナーから部分膵を摘出するため多くの膵島を分離し得る可能性があるなどの利点もある。

異種移植では、ブタ膵島移植が最も臨床応用に近い存在である。ブタ膵島には強力な異種抗原である $\alpha$ -galactosyl epitopeが発現していないが、H-D抗原などのN型糖鎖が抗原性を発揮する<sup>[72]</sup>。一方、ヒト膵島前駆細胞あるいは膵管上皮からのインスリン分泌細胞の分化誘導<sup>[73]</sup>、あるいは不死化肝細胞にPDX-1遺伝子を発現させて血糖に応じたインスリン分泌を可能とし、マウスの糖尿病状態を改善したことなども報告され<sup>[74, 75]</sup>、今後の発展が期待される。

## 6 おわりに

膵島移植は多くの研究を経て徐々にその成績を向上させつつある。我が国でも臨床膵島移植が開始されその効果が確認されつつある。しかし、現在の臨床成績はいまだ多くの改善すべき点があることを示しており、今後、組織・細胞移植としての特徴を生かし、移植膵島に対する修飾あるいは膵島の創出などさらなる発展を期待したい。

最後に、我が国の膵島移植は、膵・膵島移植研究会膵島移植班ワーキンググループ、適応検討委員会の糖尿病専門医の先生方、さらに膵島移植班事務局の先生方をはじめ多くの方々の御協力により臨床実施が可能となったことを明記し、皆様に心より敬意を表します。

(斎藤拓朗, 後藤満一)

## 参考文献

- Williams, PW (1894) Notes on diabetes treated with extract and by grafts of sheep's pancreas. *Br Med J* 2:1303-1304
- Moskalewski S (1965) Isolation and culture of the islets of Langerhans of the guinea pig. *Gen Comp Endocrinol* 5:342-353
- Bllinger WF, Lacy, PE (1972) Transplantation of intact pancreatic islets in rats. *Surgery* 72:175-186
- Scharp DW, Lacy PE et al. (1990) Insulin independence after islet transplantation into type I diabetic patient. *Diabetes* 39:515-518
- Brendel M, Hering B et al. (1999) International Islet Transplant Registry report. University of Giessen, Giessen, Germany, pp.1-20
- Shapiro AM, Lakey JR et al. (2000) Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 343:230-238
- Ryan EA, Lakey JR et al. (2001) Clinical outcomes and insulin secretion after islet transplantation with the Edmonton protocol. *Diabetes* 50:710-719
- Shapiro AM, Ricordi C et al. (2006) International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 355:1318-1330
- Ricordi C, Lacy PE, Scharp DW (1989) Automated islet isolation from human pancreas. *Diabetes* 38 (Suppl) 1:140-142
- Lakey JRT, Kobayashi N et al. (2004) Current Human Islet Isolation Protocol. Medical Review Co. Ltd, Tokyo, Japan
- White SA, London NJ et al. (2000) The risks of total pancreatectomy and splenic islet autotransplantation. *Cell Transplant* 9:19-24
- Shapiro AM, Lakey JR et al. (1995) Portal vein thrombosis after transplantation of partially purified pancreatic islets in a combined human liver/islet allograft. *Transplantation* 59:1060-1063
- Walsh TJ, Eggleston JC, Cameron JL (1982) Portal hypertension, hepatic infarction, and liver failure complicating pancreatic islet autotransplantation. *Surgery* 91:485-487
- Biarnes M, Montolio M et al. (2002) Cell death and mass in syngeneically transplanted islets exposed to short- and long-term hyperglycemia. *Diabetes* 51:66-72
- Taylor AL, Marcus R, Bradley JA (2005) Post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after solid organ transplantation. *Crit Rev Oncol Hematol* 56:155-167

16. Ryan EA, Paty BW et al. (2005) Five-year follow-up after clinical islet transplantation. *Diabetes* 54:2060-2069
17. Witkowski P, Zakai SB et al. (2006) Pancreatic islet transplantation, what has been achieved since Edmontonbreak-through. *Ann Transplant* 11:5-13
18. Witkowski P, Herold KC (2007) Islet transplantation for type 1 diabetes—where should we go? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3:2-3
19. 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 (2003) *JJSTT* 2:41-58
20. 膵島移植班膵島移植実施マニュアル (2006) 膵・膵島移植研究会 (編). 第3版
21. 膵・膵島移植研究会 膵島移植班 (2008) 膵島移植症例登録報告 (2007). 移植 439-447
22. Gotoh M, Maki T et al. (1985) An improved method for isolation of mouse pancreatic islets. *Transplantation* 40:437-438
23. Linetsky E, Bottino R et al. (1997) Improved human islet isolation using a new enzyme blend, Liberase. *Diabetes* 46:1120
24. Bucher P, Mathe Z et al. (2005) Assessment of a novel two-component enzyme preparation for human islet isolation and transplantation. *Transplantation* 79:91-97
25. Tsujimura T, Kuroda Y et al. (2002) Human islet transplantation from pancreases with prolonged cold ischemia using additional preservation by the two-layer (UW solution/perfluorochemical) cold-storage method. *Transplantation* 74:1687-1691
26. Matsumoto S, Okitsu T et al. (2006) Successful islet transplantation from nonheartbeating donor pancreata using modified Ricordi islet isolation method. *Transplantation*. 82:460-465
27. Olack B, Swanson C et al. (1991) Islet purification using Euro-Ficoll gradients. *Transplant. Proc.* 23:774-776
28. Nano R, Clissi B et al. (2005) Islet isolation for allotransplantation: variables associated with successful islet yield and graft function. *Diabetologia* 48:906-912
29. Lakey JR, Warnock GL et al. (1996) Variables in organ donors that affect the recovery of human islets of Langerhans. *Transplantation* 61:1047-1053
30. Street CN, Lakey JR et al. (2004) Islet graft assessment in the Edmonton Protocol: implications for predicting long-term clinical outcome. *Diabetes* 53:3107-3114
31. Davalli AM, Ogawa Y et al. (1995) A selective decrease in the cell mass of human islets transplanted into diabetic nude mice. *Transplantation* 59:817-820
32. Davalli AM, Ogawa Y et al. (1995) Function, mass, and replication of porcine and rat islets transplanted into diabetic nude mice. *Diabetes* 44:104-111
33. Moberg L, Johansson H et al. (2002) Production of tissue factor by pancreatic islet cells as a trigger of detrimental thrombotic reactions in clinical islet transplantation. *Lancet* 360:2039-2045
34. Ozmen L, Ekdahl KN et al. (2002) Inhibition of thrombin abrogates the instant blood-mediated inflammatory reaction triggered by isolated human islets: possible application of the thrombin inhibitor melagatran in clinical islet transplantation. *Diabetes* 51:1779-1784
35. Bennet W, Groth CG et al. (2000) Isolated human islets trigger an instant blood mediated inflammatory reaction: implications for intraportal islet transplantation as a treatment for patients with type 1 diabetes. *Ups J Med Sci* 105:125-133
36. Korsgren O, Nilsson B et al. (2005) Current status of clinical islet transplantation. *Transplantation* 79:1289-1293
37. Moberg L, Korsgren O, Nilsson B (2005) Neutrophilic granulocytes are the predominant cell type infiltrating pancreatic islets in contact with ABO-compatible blood. *Clin Exp Immunol* 142:125-131
38. Johansson H, Lukinius A et al. (2005) Tissue factor produced by the endocrine cells of the islets of Langerhans is associated with a negative outcome of clinical islet transplantation. *Diabetes* 54:1755-1762
39. Goto M, Johansson H et al. (2004) Low molecular weight dextran sulfate prevents the instant blood-mediated inflammatory reaction induced by adult porcine islets. *Transplantation* 77:741-747
40. Moberg L, Olsson A et al. (2003) Nicotinamide inhibits tissue factor expression in isolated human pancreatic islets: implications for clinical islet transplantation. *Transplantation* 76:1285-1288
41. Yang Z, Chen M et al. (2005) Inflammatory blockade improves human pancreatic islet function and viability. *Am J Transplant* 5:475-483
42. Emamaullee JA, Rajotte RV et al. (2005) XIAP overexpression in human islets prevents early posttransplant apoptosis and reduces the islet mass needed to treat diabetes. *Diabetes* 54:2541-2548
43. D'Amico E, Hui H et al. (2005) Pancreatic  $\alpha$ -cells expressing GLP-1 are resistant to the toxic effects of immunosuppressive drugs. *J Mol Endocrinol* 34:377-390
44. Urusova IA, Farilla L et al. (2004) GLP-1 inhibition of pancreatic islet cell apoptosis. *Trends Endocrinol Metab* 15:27-33
45. Suarez-Pinzon WL, Lakey JR et al. (2005) Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin induces neogenesis of human islet  $\alpha$ -cells from pancreatic duct cells and an increase in functional  $\alpha$ -cell mass. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3401-3409
46. Satoh M, Yasunami Y et al. (2007) Successful islet transplantation to two recipients from a single donor by targeting proinflammatory cytokines in mice. *Transplantation* 83:1085-1092
47. Paty BW, Bonner-Weir S et al. (2004) Toward development of imaging modalities for islets after transplantation: insights from the National Institutes of Health Workshop on Beta Cell Imaging. *Transplantation* 77:1133-1137
48. Hering BJ, Kandaswamy R et al. (2004) Transplantation of cultured islets from two-layer preserved pancreases in type 1 diabetes with anti-CD3 antibody. *Am J Transplant* 4:390-401
49. Kawai T, Andrews D et al. (2000) Thromboembolic complications after treatment with monoclonal antibody against CD40 ligand. *Nat Med* 6:114
50. Larsen CP, Pearson TC et al. (2005) Rational development of LEA29Y (belatacept), a high-affinity variant of CTLA4-Ig with potent immunosuppressive properties. *Am J Transplant* 5:443-453
51. Vincenti F, Larsen C et al. (2005) Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 353:770-781

52. Wijkstrom M, Kenyon NS et al. (2004) Islet allograft survival in nonhuman primates immunosuppressed with basiliximab, RAD, and FTY720. *Transplantation* 77:827-835
53. Hering BJ, Wijkstrom M et al. (2006) Prolonged diabetes reversal after intraportal xenotransplantation of wild-type porcine islets in immunosuppressed nonhuman primates. *Nat Med* 12:301-303
54. Akl A, Luo S, Wood KJ (2005) Induction of transplantation tolerance—the potential of regulatory T cells. *Transplant Immunol* 14: 225-230
55. Bowen KM, Prowse SJ, Lafferty KJ (1981) Reversal diabetes by islet transplantation: vulnerability of the established allograft. *Science* 213:1261-1262
56. Matsuyama S, Gunji T et al. (2003) Permanent acceptance of mitomycin C-treated islet allograft. *Transplantation* 76:65-71
57. 後藤満一, 佐藤佳宏 他 (2003) 組織・細胞移植における免疫寛容誘導モデル. *Surgery Frontier* 10:65-71
58. Sayegh MH, Fine NA et al. (1991) Immunologic tolerance to renal allografts after bone marrow transplants from the same donors. *Ann Intern Med* 114:954-955
59. Ryan EA, Shandro T et al. (2004) Assessment of the severity of hypoglycemia and glycemic lability in type 1 diabetic subjects undergoing islet transplantation. *Diabetes* 53:955-962
60. Ryan EA, Paty BW et al. (2005) Score: an assessment of  $\beta$ -cell function after islet transplantation. *Diabetes Care* 28:343-347
61. Gold AE, MacLeod KM, Frier BM (1994) Frequency of severe hypoglycemia in patients with type I diabetes with impaired awareness of hypoglycemia. *Diabetes Care* 17:697-703
62. Schlichtkrull J, Munck O, Jersild M (1965) The M-value, an index of blood-sugar control in diabetics. *Acta Med Scand* 177:95-102
63. Service FJ, Molnar GD et al. (1970) Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes* 19:644-655
64. Ryan EA, Shapiro AJ (2006) A patient with severe, recurrent hypoglycemia and glycemic lability who underwent islet transplantation. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2:349-53, quiz 354
65. Vantyghem MC, Pattou F et al. (2004) Eligibility of diabetic patients receiving dialysis for islet after kidney transplantation. *Transplant Proc* 36:1103-1105
66. CITR annual report ([https://web.emmes.com/study/isl/reports/081007\\_CITR4thAnnualReport\\_Final.pdf](https://web.emmes.com/study/isl/reports/081007_CITR4thAnnualReport_Final.pdf))
67. Hathout E, Lakey J, Shapiro J (2003) Islet transplant: an option for childhood diabetes? *Arch Dis Child* 88:591-594
68. Farney AC, Najarian JS et al. (1991) Autotransplantation of dispersed pancreatic islet tissue combined with total or near-total pancreatectomy for treatment of chronic pancreatitis. *Surgery* 110:427-437
69. Cameron JL, Mehigan DG et al. (1981) Distal pancreatectomy and islet autotransplantation for chronic pancreatitis. *Ann Surg* 193:312-317
70. Matsumoto S, Okitsu T et al. (2005) Insulin independence after living-donor distal pancreatectomy and islet allotransplantation. *Lancet* 365:1642-1644
71. Matsumoto S, Okitsu T et al. (2004) Follow-up study of the first successful living donor islet transplantation. *Transplantation* 82:1629-1633
72. Komoda H, Miyagawa S et al. (2005) Survival of adult islet grafts from transgenic pigs with N-acetylglucosaminyltransferase-III (GnT-III) in cynomolgus monkeys. *Xenotransplantation* 12:209-216
73. Halban PA (2004) Cellular sources of new pancreatic cells and therapeutic implications for regenerative medicine. *Nat Cell Biol* 6:1021-1025
74. Zalzman M, Anker-Kitai L, Efrat S (2005) Differentiation of human liver-derived, insulin-producing cells toward the  $\beta$ -cell phenotype. *Diabetes* 54:2568-2575
75. Zalzman M, Gupta S et al. (2003) Reversal of hyperglycemia in mice by using human expandable insulin-producing cells differentiated from fetal liver progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:7253-7258

## 1. 成熟細胞

## 4) 膵島移植の現況

岩永 康裕

膵島移植は高い安全性とその治療効果が証明され、インスリン依存状態糖尿病に対する細胞移植療法として臨床の場で確立されつつある。しかしながら、インスリン離脱率の著明な経時的減少、複数回の移植が必要なことなど改善しなければならない点はまだ多く残っている。今後、複数の異なった学術分野が有機的に融合することによってそれらの課題は解決され、膵島移植の技術はトランスレーショナルリサーチのプロトタイプとしてさらに発展していくと予想される。

## はじめに

膵島移植は1型糖尿病などのインスリン依存状態糖尿病に対して行われる治療法である。膵臓の中の膵島(=ランゲルハンス島, ラ島)を移植することで、適正なインスリン分泌によって糖代謝を正常化し、糖尿病性合併症の発症・進展を予防し、生活の質(QOL)を向上させることを目的としている。通常1人の患者に対して複数回の移植を行う。

膵島移植は1970年代から実験的に行われていたが、2000年にカナダのアルバータ大学からいわゆるエドモントンプロトコール<sup>1)</sup>が発表されて移植成績が飛躍的に向上し世界中に広まった。本邦では2004年4月に第1例目が実施された。

I. 膵島移植の実際<sup>2)</sup> (図①)

膵島移植は、まず摘出された膵臓を分離施設に運搬して(膵臓保存工程)、GMP基準に則ったクリーンルーム内で膵臓から膵島を分離する必要がある。膵島分離作業では、酵素(コラゲナーゼ)を膵管から注入し膵臓を消化する(膵臓消化工

程)。消化によって細くなった膵組織から、比重勾配を利用して膵島だけを集める(膵島純化工程)。こうして分離された膵島を直ちにあるいは1,2日間培養後に、レシピエントに局所麻酔下で門脈を通して肝臓内に移植する。

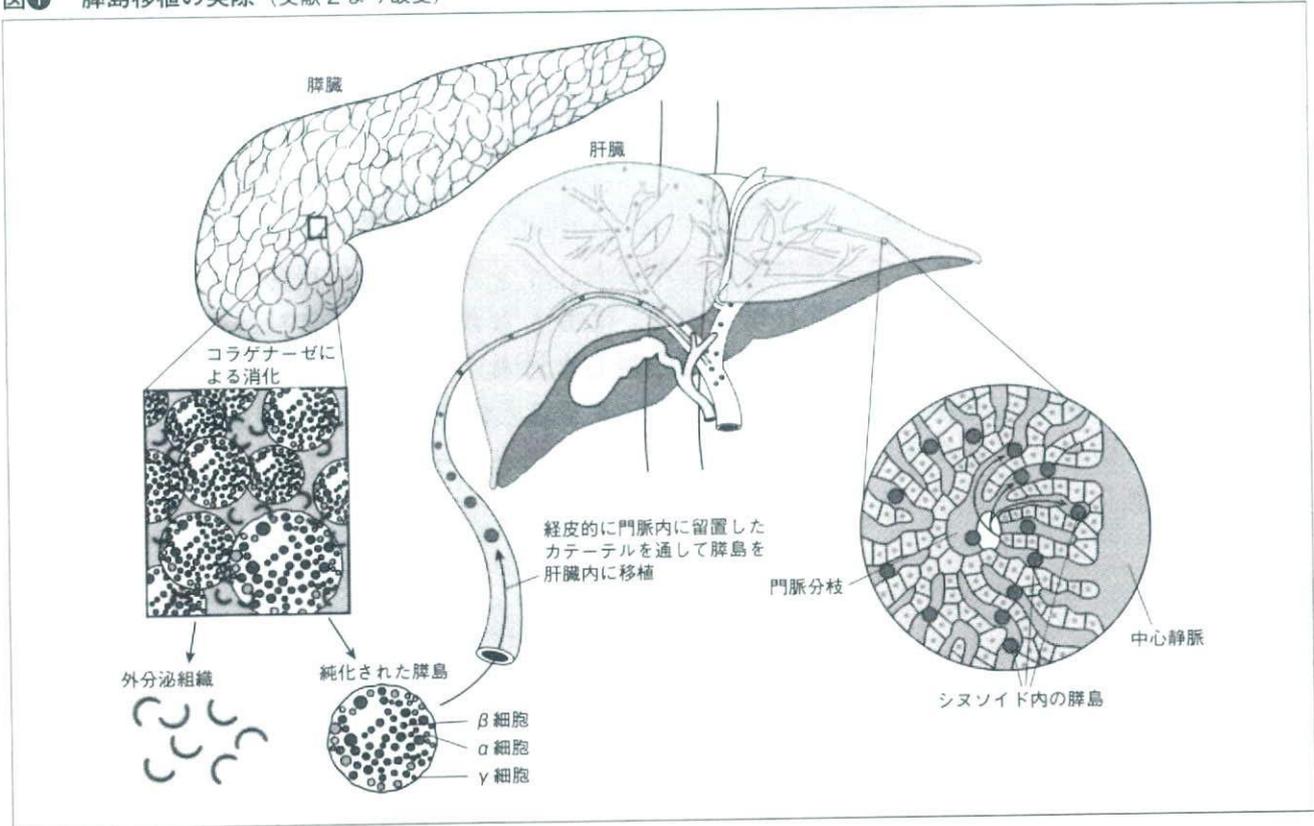
ドナーの種類によって、①脳死ドナー膵島移植、②心停止ドナー膵島移植、③生体ドナー膵島移植に分類できる。また術式によって、①膵島単独移植(islet transplant alone: ITA)、②腎移植後膵島移植(islet transplant after kidney: IAK)、③膵島腎同時移植(simultaneous islet kidney transplant: SIK)がある。ITAは腎機能が保たれている患者が対象で、現在最も多く行われている術式である。IAKは糖尿病性腎不全であらかじめ腎移植を受けた患者に対して膵島移植を追加するもので、最近IAKによる移植腎の保護効果が注目されている<sup>3)</sup>。SIKは、糖尿病性腎不全患者に対して膵島と腎臓を同時に移植するものであるが、現在は一部の施設で行われているのみである。

移植後合併症については、肝臓の穿刺部位からの出血、門脈閉塞などがあるが、膵島移植は侵襲の少ない手技で行えるため、移植に関連した重篤

## key words

膵島移植, 膵島分離, インスリン依存状態糖尿病, エドモントンプロトコール, 免疫抑制剤, ドナー不足, 異種移植, トランスレーショナルリサーチ

図① 膵島移植の実際 (文献2より改変)



な合併症は報告されていない。

## II. 世界の状況

臨床膵島移植は1970年代に始まった。当初は、膵島分離が難しいことと、移植後に拒絶のメーカーがないことから免疫抑制が困難であったため良い成績を得ることができなかった。ところが、2000年にカナダのアルバータ大学からエドモントンプロトコルが発表されて、移植成績が飛躍的に向上し世界中に広まった。このプロトコルが現在の臨床膵島移植の標準となっている。その主な特徴は、①免疫抑制剤にステロイドを使わずに、シロリムスと少量のタクロリムスを使用すること、②1人の患者に複数回の移植を行うこと、③腎機能が保たれている患者を対象とすること、である<sup>1)</sup>。現在では世界で60以上の移植施設があり、600人以上の患者がすでに移植を受けている。そして膵島移植に関連した死亡症例は1例もなく、高い安全性が確認されている。

移植後の成績に関しては、同じくアルバータ大学から移植後5年間の成績が発表された<sup>4)</sup>。まず

インスリン離脱率は移植後2年で約40%、5年で約10%であった(図②A)。これは膵臓移植の移植後5年で60~70%と比べてかなり低い値である。しかしながら、膵島の生着率(C-ペプチド陽性で判定)は80%と高い(図②B)。そのため、再びインスリン注射が必要となってもインスリンの基礎分泌がある人はHb<sub>A1c</sub><sup>用解1</sup>が6%台と血糖値の安定化は維持できていた。それに対して、インスリンの基礎分泌が残っていない人(C-ペプチド陰性)は、再び血糖値のコントロールが困難になっていた。

## III. 日本の状況

日本では膵島移植は組織移植の範疇に入るため、制度上、脳死ドナーを用いることができず、日本組織移植学会が定めたガイドラインに基づいて世界でも珍しい心停止ドナー膵島移植を行っている。実施に際しては、膵・膵島移植研究会で定められた規則の下で行っている。2004年4月に京都大学で本邦初症例が実施された。当初は、エドモントンプロトコルに則って腎機能が保た