

る有用な膵島 viability 測定方法として確立出来る
と考えられる。

E. 結論

臨床膵島移植はわが国で着実に症例の積み重ねがされており、今後の成績改善が期待される。また種々の問題点も本研究の基礎的実験にて徐々に解決されており、凍結膵島移植の実施も間近である。心停止ドナーという、条件の悪いドナーからでも十分移植に使用可能な膵島が得られることが、わが国の臨床膵島移植結果で実証された。しかしながら、さらなる膵島分離技術、凍結保存技術の改善は十分に可能であり、今後の臨床膵島移植成績改善のうえ重要な課題であると考えられる。WST-1/DNA assay は汎用性が高く、膵島分離後簡便・正確に viability を評価することが可能であった。臨床膵島移植での有用性が示唆された。

F. 健康危険情報

エドモントンプロトコールに利用されるシロリムスにより、特に、口腔内潰瘍が認められた。シロリムス減量により改善した。

G. 研究発表

1. 論文発表 (書籍)

1. 剣持 敬. 膵島移植の現状と将来の可能性 カラー版糖尿病学 — 基礎と臨床 — pp1040-1044, 門脇 孝ら編, 西村書店, 2007.6, 東京
2. 剣持 敬. 膵島移植 南山堂 医学大辞典 第19版1刷 pp1307, 2007年3月
3. 剣持 敬. 膵・膵島移植 病気と薬パーフェクト BOOK2008. 池田宇一, 大越教夫, 横田千津子 編, 南山堂, pp1596-1598, 2008, 東京
4. 剣持 敬. 19章 生体膵臓移植 膵臓移植 糖尿病根治を目指して 伊藤壽記・寺岡 慧編, シュプリンガー・ジャパン, pp295-306, 2009年3月6日, 東京
5. 剣持 敬. 膵・膵島移植 病気と薬パーフェク

ト BOOK2009. 池田宇一, 大越教夫, 横田千津子 編, 南山堂, pp1543-1545, 2009, 東京

6. 剣持 敬. V.移植療法の新しい展開 ①膵臓移植の現況と展望 糖尿病カレントライブラリー「糖尿病治療の新しい展開」岡 芳知 編, 文光堂, pp74-80, 2009, 東京
 7. 剣持 敬. XIV. 腎移植と膵移植 2. ABO血液型不適合膵臓移植 腎移植のすべて. 高橋公太 編, メディカルビュー社, pp490-493, 2009, 東京
 8. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平 ABO血液型不適合ドナーからの生体膵・腎同時移植の成績 ABO血液型不適合移植の新戦略 2009. 高橋公太・田中紘一 編, 日本医学館, pp55-62, 2009, 東京
 9. 剣持 敬, 大月和宣. 手術室-器械用具と業務. ナースの外科学 改訂第5版 磯野可一 編, 中外医学社, pp15-50, 2010, 東京
 10. 剣持 敬, 大月和宣, 磯野可一. 鏡視下手術. ナースの外科学 改訂第5版 磯野可一 編, 中外医学社, pp145-155, 2010, 東京
 11. 剣持 敬. 臓器移植. ナースの外科学 改訂第5版 磯野可一 編, 中外医学社, pp156-168, 2010, 東京
 12. 剣持 敬. 移植(肝臓・膵臓). 消化器外科イラスト LIBRARY 改訂第2版 浅野武秀監, 貝沼 修 編, メディカルビュー社 pp177-189, 2010, 東京
- (雑誌)
1. Kenmochi T, Maruyama M, Mullen Y, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Ohtsuki K, Suzuki A, Miyazaki M.(2007) Successful Engraftment of Cryopreserved Human Pancreatic Islets into Diabetic Nude Mice. *Low Temp Med.* 33:4-7
 2. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Ohtsuki

- K, Suzuki A, Miyazaki M.(2008)
Cryopreservation of Human Pancreatic Islets from Non-heart Beating Donors using Hydroxyethyl Starch and Dimethyl Sulfoxide as Cryoprotectants. Cell Transplant. 17:61-67
3. Kenmochi T, Saigo K, Maruyama M, Akutsu N, Otsuki K, Suzuki A, Miyazaki M.(2008) Results of kidney transplantation from ABO-incompatible living donors in a single institution. Transplant Proc. 40: 2289-2291
 4. Kenmochi T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Otsuki K, Ito T, Suzuki A, Miyazaki M, Saito T.(2008) Successful islet transplantation from the pancreata of non-heart-beating donors. Transplant Proc. 40:2568-70
 5. Suzuki A, Kenmochi T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Otsuki K, Miyazaki M.(2008) Evaluation of quality of life after simultaneous pancreas and kidney transplantation from living donors using short form 36. Transplant Proc. 2008 40:2565-7
 6. Otsuki K, Kenmochi T, Saigo K, Maruyama M, Akutsu N, Iwashita C, Kono T, Okazumi S, Asano T, Yoshikawa K.(2008) Evaluation of segmental pancreatic function using ¹¹C-methionine positron emission tomography for safe operation of living donor pancreas transplantation. Transplant Proc. 40: 2562-2564
 7. Ishibashi M, Ito T, Furukawa H, Sekiguchi S, Gotoh M, Teraoka S, Sato Y, Matsuno N, Kenmochi T, Uchida H, Yoshimura N, Nakajima Y, Kuroda Y, Odan H, Idezuki Y, Kanazawa Y.(2008) Present status of pancreas transplantation in Japan-Donation predominantly from marginal donors and modified surgical technique: Report of Japan Pancreas Transplantation Registry. Transplant Proc. 40: 486-490
 8. Akutsu N, Iwashita C, Maruyama M, Otsuki K, Saigo K, Kenmochi T.(2008) Two cases of calcineurin inhibitor-associated reversible posterior leukoencephalopathy syndrome in renal transplant recipients. Transplant Proc. 40: 2416-2418
 9. Saigo K, Yoshida K, Ikeda R, Sakamoto Y, Murakami Y, Urashima T, Asano T, Kenmochi T, Inoue I.(2008) Integration of hepatitis B virus DNA into the myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (MLL4) gene and rearrangements of MLL4 in human hepatocellular carcinoma. Hum Mutat. 29(5):703-8
 10. Lee JI, Nishimura R, Sakai H, Sasaki N, Kenmochi T.(2008) A newly developed immunoisolated bioartificial pancreas with cell sheet engineering. Cell Transplant. 17:51-59
 11. Sato Y, Nakatsuka H, Yamamoto S, Oya H, Kobayashi T, Watanabe T, Kokai H, Kenmochi T, Hatakeyama K.(2008) Living related pancreas transplantation alone with enteric drainage in Japan: case report. Transplant Proc. 40:2559-61
 12. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Ohtsuki K, Ito T. (2009) Clinical Islet Transplantation in Japan. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 16:124-30
 13. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Ohtsuki K, Ito T, Suzuki A, Miyazaki M(2010). Living Donor Pancreas Transplantation in Japan. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 17:101-107
 14. 劍持 敬(2007)膵臓移植の最近の動向. 臨床外科 62(13):1719-1726
 15. 劍持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坏 尚武, 岩下 力, 大月和宣(2007)膵臓移植と膵島移植 -世界の現状- 移植 42: 536-544

16. 剣持 敬(2007)特集「生体ドナーに関する適応と諸問題」生体膵臓移植. 移植 42: 514-522
17. 鈴木亜希子, 宮崎麻里子, 今野弘子, 丸山通広, 剣持 敬(2007)生体膵臓移植におけるレシピエントコーディネーターの役割. 移植 42(1):2-6
18. 剣持 敬(2008)本邦における生体膵臓移植の導入と手術手技. 手術 62: 91-105
19. 剣持 敬(2008)Q&A/1型糖尿病. 世界の膵島移植の介入研究から何を学びましたか? 肥満と糖尿病 7: 61-63
20. 大月和宣, 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 河野世章, 岡住慎一, 浅野武秀, 吉川京燦(2008) 11C-methionine PETを用いた膵外科前後での部分膵機能評価;生体部分膵移植ドナーへの臨床応用 消化器画像 9: 597-602
21. 前島基志, 剣持 敬, 太田修司, 岡村康子, 大月和宣, 丸山通広, 石川 淳, 宮原行雄, 杉村有司, 酒巻建夫(2008) 腎移植後急性期患者の移植腎超音波検査 超音波検査技術 33: 425-433
22. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 大月和宣, 岩下 力, 伊藤泰平, 宮崎麻里子, 鈴木亜希子, 首村守俊(2008) 長期透析患者の腎移植の適応とその問題点 腎と透析 65(3)363-367
23. 坪 尚武, 剣持 敬, 丸山通広(2008) 膵島凍結保存 移植 43: 357-363
24. 剣持 敬, 丸山通広, 鈴木亜希子(2009) 当施設での ABO 血液型不適合腎移植—治療戦略の変遷とリツキシマブの有用性— 今日の移植 22:193-197
25. 剣持 敬(2009) 膵臓炎が発症したらどう対応よいでしょうか? 腎と透析 66:644-646
26. 剣持 敬(2009) マージナルドナーシリーズ [8]腎臓 Organ Biology 16:237-245
27. 剣持 敬(2009) 特集「移植の医療経済」各臓器移植分野における医療経済 膵臓移植の医療経済 移植 44:31-35
2. 学会発表(移植関連, First authorのみ)
1. T. Kenmochi, Takehide Asano, Michihiro Maruyama, Ken-ichi Saigo, Naotake Akutsu, Chikara Iwashita, Kazunori Ohtsuki. Successful simultaneous pancreas and kidney transplantation from ABO-incompatible living donors. 2007 Joint Conference –CTS-IPITA-IXA 2007/9/15-20, Minneapolis, MN, USA
 2. T. Kenmochi, Session 305 Oral abstract Pancreas Transplant, other. Chairman. 2007 Joint Conference –CTS-IPITA-IXA 2007/9/15-20, Minneapolis, MN, USA
 3. T. Kenmochi, K. Saigo, M. Maruyama, N. Akutsu, C. Iwashita, K. Otsuki, T. Ito, A. Suzuki, M. Miyazaki. Results of kidney transplantation from ABO-incompatible living donors in a single institution. 10th Congress of Asian Society of Transplantation. 2007/12/1-4, Pattaya, Thailand.
 4. T. Kenmochi, M. Maruyama, K. Saigo, N. Akutsu, C. Iwashita, K. Otsuki, T. Ito, A. Suzuki, M. Miyazaki, T. Saito. Successful Islet transplantation from the pancreas of non-heart beating donors. 10th Congress of Asian Society of Transplantation. 2007/12/1-4, Pattaya, Thailand.
 5. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Otsuki K, Ito T (2008) Successful simultaneous pancreas and kidney transplantation from ABO-incompatible living donors. (Symposium) XII International Congress of the Transplantation Society 2008.8.11 Sydney, Australia
 6. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Akutsu N (2009) Cryopreservation of human islets using hydroxyethyl starch and dimethyl sulfoxide. (Symposium) XII International Congress of the The

- Okayama 2009 CTS - JSOPMB Joint Conference 2009.4.20 Okayama, Japan
7. Kenmochi T(2009) Islet transplantation in Japan (Invited speaker). The 9th Symposium of Research for beta-cell and Islet Transplantation. 2009.11.28 Seoul, Korea
 8. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Otsuki K, Ito T, Matsubara H(2009) Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation from Living Donors in Japan. – Outcome of Eleven Consecutive Clinical Trials in a Single Institution– (Oral presentation) International Pancreas and Islet Transplant Association. 2009.10.12 Venice, Italy
 9. Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, Saigo K, Akutsu N, Iwashita C, Otsuki K, Ito T, Matsubara H(2009) Three-Year follow-Up of Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation from ABO-incompatible Living Donors. (Oral presentation) International Pancreas and Islet Transplant Association. 2009.10.12 Venice, Italy
 10. 剣持 敬. 腎疾患 update:腎移植(講演)平成18年度国立病院機構腎疾患研修会. 2007/1/25 千葉
 11. 剣持 敬, 丸山通広, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 西村元伸, 関 直人, 鈴木 亜希子, 宮崎麻里子. ABO 不適合生体膵・腎同時移植の1例(一般口演). 2007/2/28 山代温泉
 12. 剣持 敬. 糖尿病は移植で治るんですか? (特別講演) 第10回栃木県ヤング・小児糖尿病講演会 2007/3/25 宇都宮
 13. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣. シンポジウム「糖尿病根治へのブレイクスルー」生体膵臓移植の治療成績と将来展望(シンポジウム) 第34回膵・膵島移植研究会 2007.3.30 大阪
 14. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣. ABO 血液型不適合生体膵・腎同時移植の1例(一般口演) 第34回膵・膵島移植研究会 2007.3.30 大阪
 15. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣. 生体膵臓移植の治療成績と今後の展望(パネルディスカッション) 第107 日本外科学会定期学術集会 2007.4.11 大阪
 16. 剣持 敬. わが国の膵島移植の現状と将来展望(特別講演) 第14回 HAB 研究機構学術年会 2007.5.18 東京
 17. 剣持 敬. 本邦における生体膵臓移植の導入と手術手技(特別講演)第61回手術手技研究会 2007.5.19 新潟
 18. 剣持 敬. 当院における移植医療の現況－腎移植を中心に－(講演)第1回千葉・茨城腎移植セミナー 2007.6.2 東京
 19. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣. 1型糖尿病腎不全に対する生体膵・腎同時移植の導入と治療成績(ワークショップ) 第19回日本肝胆膵外科学会 2007.6.7 横浜
 20. 剣持 敬. 当院における移植医療の現況(特別講演)中外製薬社内講演 2007.6.22 千葉
 21. 剣持 敬. 1型糖尿病に対する膵臓移植・膵島移植の臨床(特別講演)第215回茨城外科学会 2007.7.7 水戸
 22. 剣持 敬. 当院における移植医療の現状－腎移植を中心に－(特別講演)房総移植医療カンファレンス 2007.7.8 千葉
 23. 剣持 敬. 当院の腎臓移植・膵臓移植・膵島移植の現状と成果(特別講演)臓器移植についての公開講座「千葉県の移植医療の現状と成果」 2007.7.20 鴨川
 24. 剣持 敬. 腎移植(特別講演)2007年度国立病院機構腎疾患研修会 2007.7.24 千葉

25. 剣持 敬. 組織移植医療の定着を求めて—膵島移植の立場から—(シンポジウム) 2007 年度第 6 回日本組織移植学会・学術集会 2007.8.4 大阪
26. 剣持 敬. 移植と免疫遺伝学(教育講演)第 17 回遺伝医学セミナー 2007.9.9 千葉
27. 剣持 敬. 膵島移植—臨床成績と将来展望—(特別講演)第 19 回新潟分子病態・再生医学セミナー 2007.9.14 新潟
28. 剣持 敬. 当院における生体膵・腎同時移植の経験(特別講演)第 5 回 Transplantation Update 研究会 2007.9.23 滋賀
29. 剣持 敬. 糖尿病治療としての腎移植, 膵・膵島移植(特別講演)第 20 回腎臓病を考える会 2007.10.28 千葉
30. 剣持 敬. 当院の腎移植医療の現況と腎ネット研究への展開(シンポジウム)第 2 回腎ネットシンポジウム 2007.11.15 名古屋
31. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平. 糖尿病根治療法のオプションとしての ABO 血液型不適合生体膵臓移植の導入と成績(シンポジウム) 第 43 回日本移植学会 2007.11.22 仙台
32. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平. 1 型糖尿病腎不全に対する生体膵・腎同時移植—手技と成績—(一般口演) 第 19 回 千葉 Critical Care Medicine 研究会 2007.12.8 千葉
33. 剣持 敬. わが国の膵島移植の現状と展望(特別講演)第 37 回 日本内科学会生涯教育講演会 2007.12.9 東京
34. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子. ABO 不適合生体膵・腎同時移植の導入(一般口演) 平成 19 年度千葉大学先端応用外科例会 2007.12.23 千葉
35. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 大月和宣, 岩下 力, 伊藤泰平, 宮崎麻里子, 鈴木亜希子. わが国の献腎移植の問題点—当院での経験からの考察—(シンポジウム) 第 41 回日本臨床腎移植学会 2008.1.23 浜名湖
36. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 大月和宣, 岩下 力, 伊藤泰平, 宮崎麻里子, 鈴木亜希子. 1 型糖尿病腎不全に対する ABO 不適合生体膵・腎同時移植(一般口演) 第 41 回日本臨床腎移植学会 2008.1.23 浜名湖
37. 剣持 敬. 膵臓移植・膵島移植の臨床—糖尿病根治への挑戦—(教育講演)自治医科大学大学院特別講義 2008.2.14 栃木
38. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子. 重症糖尿病に対する細胞移入治療法の選択—膵臓移植と膵島移植—(コメンテーター) 第 35 回 膵・膵島移植研究会 2008. 3.7 京都
39. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子. ABO 血液型不適合ドナーからの生体膵・腎同時移植 3 例の成績(一般口演) 第 35 回 膵・膵島移植研究会 2008. 3. 7 京都
40. 剣持 敬. 肝胆膵・移植外科領域の手術(特別講演)タイコヘルスジャパン社内講演会 2008.3.22 富士宮
41. 剣持 敬(2008) 膵臓移植・膵島移植の臨床—糖尿病根治への挑戦—(教育講演) 自治医科大学大学院特別講義. 2008.2.14 栃木市
42. 剣持 敬(2008) 肝胆膵・移植外科領域の手術.(特別講演) タイコヘルスジャパン社内講演. 2008.3.22 富士宮市
43. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2008) 重症 1 型糖尿病に対する生体膵臓移植の適応と治療成績.(パネルディスカッション) 第 108 回日本外科学会 2008.5.16 長崎市

44. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 大月和宣, 岩下 力, 伊藤泰平(2008) 1型糖尿病腎不全に対する ABO 不適合生体膵・腎同時移植の導入と成績. 第 108 回日本外科学会 2008.5.16 長崎市
45. 剣持 敬(2008) 移植—最近の話題—1. サイトメガロウイルス2. 移植後リンパ増殖性疾患 (PTLD). (特別講演) 2008 年度千葉臓器移植セミナー. 2008.5.25 千葉市
46. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 大月和宣, 岩下 力, 伊藤泰平(2008) 膵体尾部切除後の膵液瘻予防としての gabexate mesilate の有効性—生体膵臓移植ドナー手術への応用—. (シンポジウム) 第 20 回日本肝胆膵外科学会 2008.5.30 山形市
47. 剣持 敬 膵(2008)膵手術 2-2(座長) 第 20 回日本肝胆膵外科学会 2008.5.29 山形市
48. 剣持 敬(2008) 医療訴訟について(司会) 千葉東病院院内講演会 2008.6.3
49. 剣持 敬(2008) 糖尿病性腎症に対する膵・膵島移植の臨床, —糖尿病根治への挑戦—. (特別講演) 東総膵腎移植セミナー 2008.6.10 旭市
50. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 松原久裕(2008) 生体腎移植, 生体膵・腎同時移植ドナーの術後 QOL の検討. (パネルディスカッション) 第 33 回日本外科系連合学会 2008.6.13 浦安市
51. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2008) 1型糖尿病腎不全に対する ABO 不適合生体膵・腎同時移植の導入と成績. 第25回日本胆膵生理機能研究会 2008.6.21 京都市
52. 剣持 敬(2008) 主題 II 胆・膵の再生医療(指定討論者) 第25回日本胆膵生理機能研究会 2008.6.21 京都市
53. 剣持 敬(2008) わが国の移植医療の展開と
当院の現状. (講演) 臓器移植についての公開講座「千葉県の移植医療の現状と成果」. 2008.7.6 千葉市
54. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2008) 1型糖尿病腎不全に対する生体膵・腎同時移植の導入と成績. 第14回日本移植薬物研究会 2008.7.19 東京
55. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 松原久裕(2008) わが国における生体膵臓移植の導入と臨床成績. (パネルディスカッション) 第 39 回日本膵臓学会 2008.7.30 横浜市
56. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2008) ABO 血液型不適合ドナーからの生体膵・腎同時移植の成績. 第15回 ABO 血液型不適合移植研究会 2008.8.3 名古屋市
57. 剣持 敬(2008) 腎移植1(座長) 第15回 ABO 血液型不適合移植研究会 2008.8.3 名古屋市
58. 剣持 敬(2008) 腎移植と膵移植の現状と今後. (講演) 日本移植者協議会「第28回移植セミナー」. 2008.9.7 東京
59. 剣持 敬(2008) 当院の移植医療の展開—腎・膵・膵島移植—. (特別講演) 東葛腎移植セミナー. 2008.9.10 柏市
60. 剣持 敬(2008) 当院の移植医療の現状—腎・膵・膵島移植—. (特別講演) 千葉市医療連携セミナー. 2008.9.11 千葉市
61. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 松原久裕, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2008) 膵臓移植後の Primary graft failure の原因と対策. (シンポジウム) 第 44 回日本移植学会 2008.9.20 大阪市
62. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜

- 希子, 宮崎麻里子(2008) 重症1型糖尿病に対する生体膵臓移植の適応と治療成績. 第44回日本移植学会 2008.9.20 大阪市
63. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平(2008) 既存抗体陽性レシピエントに対する腎移植症例の成績. 第44回日本移植学会 2008.9.20 大阪市
64. 剣持 敬(2008) サテライト・シンポジウム(司会) 第44回日本移植学会 2008.9.20 大阪市
65. 剣持 敬(2008) 当院における移植医療の現状. 第2回千葉・茨城腎移植セミナー 2008.10.11 東京
66. 剣持 敬(2008) 第5回臓器不全患者に対する外科・管理研究会(当番世話人) 2008.11.1 千葉市
67. 剣持 敬(2008) 1型糖尿病に対する膵・膵島移植の臨床.(特別講演) 第14回神奈川小児糖尿病研究会. 2008.11.19 横浜市
68. 剣持 敬, 丸山通広, 大月和宣, 伊藤泰平, 西郷健一, 坪 尚武, 岩下 力, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子, 齋藤友永(2008) 「Expand Criteria donor(ECD)あるいは心停止ドナーからの臓器・組織移植—現状と可能性」分野: 膵島.(シンポジウム) 第35回日本臓器保存生物医学会 2008.11.22 東京
69. 剣持 敬(2008) 一般演題2「膵島移植」(座長) 第35回日本臓器保存生物医学会 2008.11.22 東京
70. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平(2008) Workshop 5 Current status of islet isolation and preservation. Successful islet transplantation from the pancreas of non-heart beating donors. (ワークショップ) 第35回日本低温医学会 2008.11.23 東京
71. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2008) 鏡視下ドナー手術を導入した生体膵・腎同時移植. 平成20年度千葉大学先端応用外科例会 2008.12.7 千葉市
72. 剣持 敬(2008) わが国の膵・膵島移植の現状.(特別講演) 成育医療センター糖尿病セミナー. 2008.12.13 東京
73. 剣持 敬(2009) わが国の腎移植統計からみた長期生着阻害要因(講演) Renal Transplantation Forum 2009. 2009.5.16 東京
74. 剣持 敬(2009) 臓器移植についてのレクチャー: わが国の現状.(講演) 日本移植学会公開講座. 2009.5.24 千葉市
75. 剣持 敬(2009) わが国の腎移植の現状と当院の取り組み.(講演) 腎移植・公開講座. 2009.5.31 市原市
76. 剣持 敬(2009) 移植を経験された患者さんのお話.(座長) 脳死移植を推進する会 2009.6.7 東京
77. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坪 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子(2009) 当施設でのABO血液型不適合腎移植—治療戦略とリツキシマブの有用性—. (シンポジウム) 第25回腎移植・血管外科研究会. 2009.6.27 志摩市
78. 剣持 敬(2009) 千葉県の臓器移植の現状(司会) 臓器移植についての公開講座「千葉県の移植医療の現状と成果」. 2009.7.5 千葉市
79. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子*, 宮崎麻里子(2009) ABO血液型不適合生体膵・腎同時移植の導入と成績.(一般口演) 第16回ABO血液型不適合移植研究会. 2009.8.1 名古屋市
80. 剣持 敬(2009) シンポジウム 組織提供・移植における安全対策・事故防止対策.(司会) 第8回日本組織移植学会. 2009.8.29 東京
81. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坪尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平(2009)

- ABO 血液型不適合生体臓器移植におけるアフレス療法の有効性. (シンポジウム) 第30回日本アフレス学会. 2009.9.11 札幌市
82. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坏 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子, 松原久裕 (2009) ABO 血液型不適合ドナーからの生体臓器・腎同時移植の成績. (一般口演) 第45回日本移植学会. 2009.9.17 東京
83. 剣持 敬, 浅野武秀, 西村元伸, 西郷健一, 丸山通広, 坏 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 安西慶三, 松久宗英 (2009) 生体臓器移植ドナー適応基準の検討(一般口演) 第45回日本移植学会 2009.9.17 東京
84. 剣持 敬, 三重野牧子, 芦刈淳太郎 (2009) レジストリー報告(腎臓移植)—わが国の腎臓移植の現状と問題点—(シンポジウム) 第45回日本移植学会 2009.9.17 東京
85. 剣持 敬 (2009) レジストリーレポート(司会) 第45回日本移植学会 2009.9.17 東京
86. 剣持 敬 (2009) 「臓器移植の推進と定着に向けて」わが国の現状と課題—移植医の視点より—(パネルディスカッション) 第11回臓器移植推進国民大会 2009.10.24 千葉市
87. 剣持 敬 (2009) 慢性腎臓病(CKD)に対する腎臓移植(特別講演) 第22回腎臓病を考える会 2009.10.25 千葉市
88. 剣持 敬 (2009) Session 5(座長) 第6回臓器不全患者に対する外科・管理研究会(COSMOF) 2009.11.14 東京
89. 剣持 敬, 西郷健一, 丸山通広, 坏 尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子, 曾根恵一 (2009) 千葉県の移植医療の課題改正臓器移植法施行に向けて. (一般口演) 第1198回千葉医学会例会 2009.12.13 千葉市
90. 剣持 敬 (2009) 膵癌と糖尿病に挑んで(浅野武秀講演). (記念講演) 第1198回千葉医学会例会 2009.12.13 千葉市
91. 剣持 敬 (2009) 生体臓器移植の適応・手技・成績について. (特別講演) 福岡臓移植セミナー 2009.12.15 福岡市
92. 剣持 敬 (2010) 国立病院機構千葉東病院における先行的腎移植の現状. (講演) 第43回日本臨床腎移植学会 腎移植連絡協議会 2010.1.28 高知市
93. 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 丸山通広, 坏尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子 (2010) 1型糖尿病腎不全に対する生体臓器・腎同時移植の成績. (一般口演) 第43回日本臨床腎移植学会 2010.1.30 高知市
94. 剣持 敬, (2010) 千葉県と当院の現状. (講演) 第43回日本臨床腎移植学会 拡大臓器提供推進協議会 2010.1.30 高知市
95. 剣持 敬 (2010) 免疫抑制. (座長) 第43回日本臨床腎移植学会 2010.1.30 高知市
96. 剣持 敬 (2010) シンポジウム3「腎移植後の妊娠と出産」. (司会) 第43回日本臨床腎移植学会 2010.1.30 高知市
97. 剣持 敬 (2010) 当院における移植医療の現状. (特別講演) 第14回千葉県臨床工学技師会 2010.3.7 千葉市
98. 剣持 敬, 浅野武秀, 丸山通広, 西郷健一, 坏尚武, 岩下 力, 大月和宣, 伊藤泰平, 鈴木亜希子, 宮崎麻里子 (2010) 生体臓器移植の臨床成績と将来展望. (シンポジウム) 第37回日本臓器・膵島移植研究会 2010.3.13 宇都宮市
99. 剣持 敬 (2010) 一般演題①(O-1~3). (座長) 第37回日本臓器・膵島移植研究会 2010.3.12 宇都宮市
100. 剣持 敬 (2010) 千葉県における移植医療の現状と課題. (特別講演) 旭中央病院院内講演会 2010.3.18 旭市

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

「探索医療の成果としての膵島移植医療の確立」に関する研究

分担研究者 岩永 康裕 京都大学医学部附属病院臓器移植医療部 助教

研究要旨

本邦では、重症糖尿病に対する治療法として臨床膵島移植が 2004 年から始まった。この医療を確立するためには、良質の膵島を安定して得ること、さらに移植後の膵島生着率を改善して、中長期の移植成績を向上させることが重要である。本研究では、1)膵島分離法の改良、2) 前駆細胞を用いた膵島様組織選択培養法の開発、3)移植膵島の生着率の改善について、基礎的研究を行なった。まず、1)膵島分離法の改良では従来使用していた酵素（Liberase HI）が使用不可となったため、新たな酵素として哺乳類動物由来成分を含まない Liberase MTF-S がその代替品となりうるか大動物（ブタ）を用いて検証した。膵島分離結果は、従来のものと遜色なく、臨床に使用可能であることが示唆された。次に、2) 前駆細胞を用いた膵島様組織選択培養法の開発については、膵島の純化工程で廃棄される膵組織内から前駆細胞を取り出し、選択的に増殖させ、これを膵島様組織へ分化させる新規選択培養法を確立した。3)移植膵島の生着率の改善では、移植後まず起こる血液凝固性炎症反応（IBMIR）を効果的に抑制し、かつ生体に優しい物質 Agent R に着目し、この物質で処理することにより IBMIR を軽減できることがわかり、その有効性が示唆された。

A. 研究目的

膵島移植は、2000年にカナダのアルバータ大学からいわゆるエドモンソンプロトコールが発表されて移植成績が向上し、世界中に広まった。日本では、2004年に開始されたばかりである。この医療を確立するためには、良質の膵島を安定して得ることができて、そして移植後より多くの膵島が生着できるようにしなければならない。そこで、本研究では、1) 膵島分離法の改良、2) 前駆細胞を用いた膵島様組織選択培養法の開発、3) 移植膵島の生着率の改善を行なう。

B. 研究方法

1) 膵島分離法の改良

これまで膵臓保存液、消化液、膵島純化液を改良して心停止ドナーに特化した膵島分離法（KYOTO膵島分離法）を開発してきた。この際に膵臓を消化するための酵素はLiberase HIを使用してきた。しかし、臨床膵島分離では従来のLiberase HIが使用不可となったため、新たな酵素として哺乳類動物由来成分を含まない Liberase MTF-Sがその代替品となりうるか大動物（ブタ）を用いて検証する。

心停止ブタの膵臓を用いて膵島分離をKYOTO法で行なった。対照群として従来のLiberase HIを使用した膵島分離を同様に行ない、未消化組織量、膵島収量、純度、回収率、パイアビリティー (AO/PI) を比較検討した。

2) 前駆細胞を用いた膵島様組織選択培養法の開発

マウスの膵臓から膵島を分離後に通常廃棄される組織から(腺房細胞、外分泌細胞、間質系細胞を含む)から、ある培養条件下で上皮系前駆細胞を選択的に増殖させ、これを膵島様組織へ分化させる新規選択培養法を開発。さらに移植モデルを用いて、分化膵島様組織による血糖値安定化を検討した。

3) 移植膵島の生着率の改善

膵島移植後即座に引き起こされる血液凝固性炎症反応 (Instant Blood-Mediated Inflammatory Reaction: IBMIR) は、移植膵島の生着を著しく阻害するため解決策が求められている。そこで、IBMIRを抑制する機序を解明すると同時に、より効果的に抑制し、かつ生体に優しい物質を探索する。本研究では、Agent Rを用いて、in vitro実験を行なった。ループチューブ内で、UW保存液 (UW群)、ET-Kyoto溶液 (ETK群)、Agent Rで処理したブタ膵島 (Agent R群) をヒト血液とそれぞれ揺動させながら共培養し、直後に採取した血液の組成を分析した。ブタ膵島を入れずに揺動させたものを対照群とした。

C. 研究結果

1) 膵島分離法の改良

Liberase HIを使用した膵島分離 (対照群) では、純化前分離膵島数 4920 IE/g、純化後分離膵島数 3141 IE/g、回収率 63.9%、パイアビリティー (AO/PI) 94%であった。Liberase MTF-Sを使用した場合は、純化前分離膵島数 4618 IE/g、純化後分離膵島数 3320 IE/g、回収率 71.9%、パイアビリティー (AO/PI) 80%と、Liberase HIに比べて遜色ない結果となった。

2) 前駆細胞を用いた膵島様組織選択培養法の開発

様々な培養条件を検討し、最終的にマウス膵臓の非内分泌組織から上皮系の前駆細胞を選択的に初期培養できる方法を確立した。(図 1. A)。そして、この前駆細胞がインスリン分泌細胞への転写に重要な因子 Ngn3 を発現することが確認できた(図 1. B)。

純化培養した前駆細胞を今回開発した方法 (R法) で培養した結果、従来法と比べてより多くの膵島様組織が培養できた(図 2. C)。また、より多くのインスリン産生細胞へと培養できた(図 2. D, E)。

培養した膵島様組織のインスリン分泌量は、他施設から発表されている方法と比べてより高く、しかもその分泌機能は明瞭なグルコース応答性を示した(図 3.)。

R法で培養した膵島様組織を糖尿病化マウスに移植した結果、血糖値の低下を認めた(図 4.)。

図1.

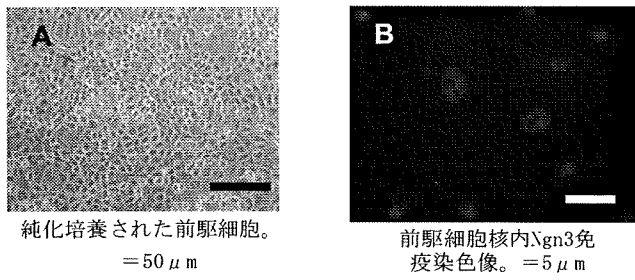


図2.

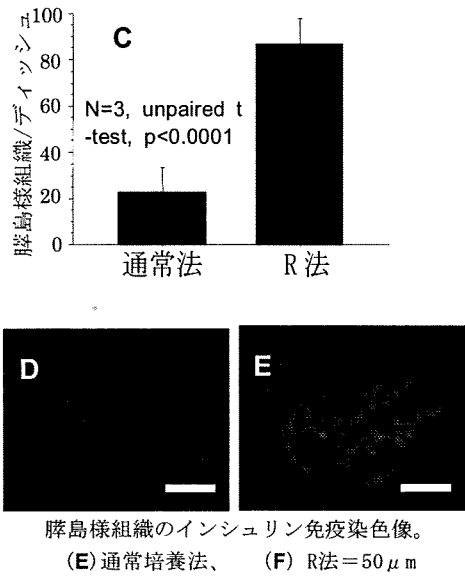


図3.

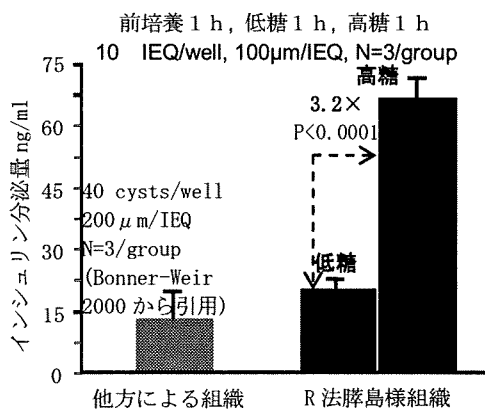
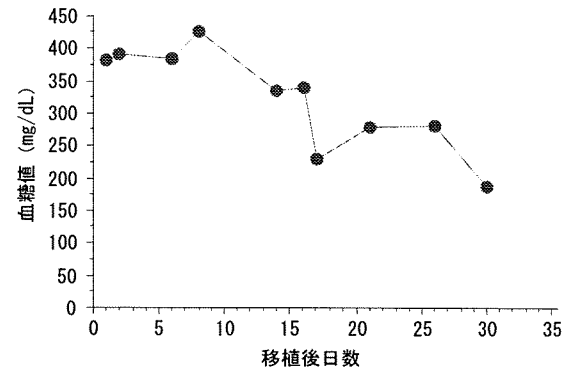


図4.



3) 移植膵島の生着率の改善

共培養後のヒト血液組成の分析で、Agent R群で顆粒球の減少が他に比べて抑えられた (図5)。

血小板の減少速度は、Agent R群が最も遅く、膵島と混合していない血液 (対照群) と比べて差がなかった (図6)。

凝固血量はAgent R群は他の処理群に比べて有意に少なく、血液凝固反応が抑えられたことが示唆された (図7)。

図5. 血球数の変化

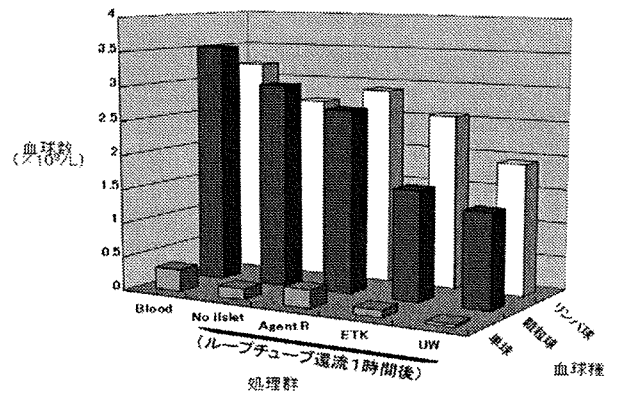


図 6. 血小板数の変化

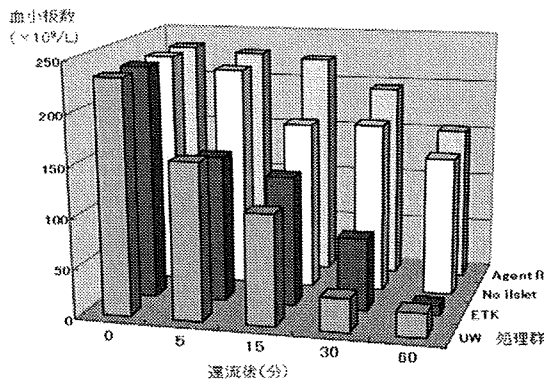
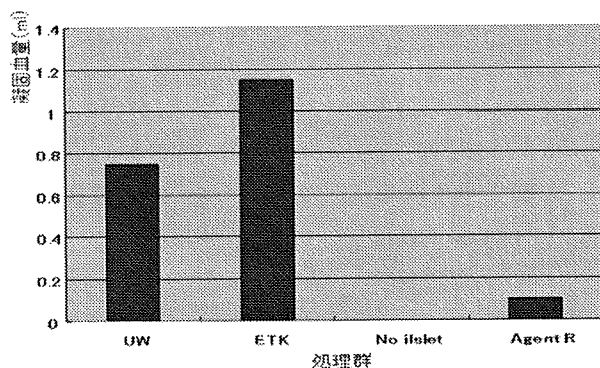


図 7. 凝固血量



D. 考察

臨床膵島分離では従来のLiberase HIが使用不可となったため、代替品となりうる新たな酵素を見つけることが喫緊の課題であった。そこで、哺乳類動物由来成分を含まないLiberase MTF-Sについて大動物（ブタ）を用いて検証したところ、Liberase HIと比べて遜色ないことが分かった。新しい酵素としてLiberase MTF-Sが臨床に使用可能であることが示唆された。

前駆細胞を用いた膵島様組織選択培養法の開発では、膵島の純化工程で廃棄される膵組織内から前駆細胞を取り出し、それがインスリン分泌細胞への転写に重要な因子Ngn3を発現するこ

とが確認できた。さらに、移植に利用可能な膵島様組織へ従来法よりも多く分化させることができた。機能においても大変良好であった。

移植膵島の生着率の改善として、IBMIR 軽減のための基礎的研究を行った。共培養後のヒト血液組成の分析で、Agent R 群では顆粒球の消費が抑制され、血液凝固反応を抑制することが示された。従って、Agent R 処理により IBMIR を軽減できる可能性が示唆された。

E. 結論

十分量の良質な膵島を安定して得るために、1) 哺乳類動物由来成分を含まないLiberase MTF-SがLiberase HIの代替品となりうることを確認した。2)膵島の純化工程で廃棄される膵組織内から前駆細胞を取り出し、選択的に増殖させ、これを膵島様組織へ分化させる新規選択培養法を開発した。これらは、十分量の良質な膵島を安定して得ることにつながる。

移植膵島の生着率を改善するために、IBMIRの抑制をターゲットにした基礎研究で、Agent Rが有用であった。

このように多方面に改善改良を加えることによって、膵島移植の成績は向上し、それがこの医療の確立につながる。

F. 研究発表

1. 論文発表

(著書)

岩永康裕 「進みつづける細胞移植治療の実際」 膵島移植の現況 (下巻) P147-151、
遺伝子医学MOOK 別冊 編集 田畑泰彦
株式会社メディカル ドウ 大阪 2008

(雑誌)

- 1) Noguchi H, Ueda M, Hayashi S, Kobayashi N, Nagata H, Iwanaga Y, Okitsu T, Matsumoto S. Comparison of M-Kyoto solution and histidine-tryptophan-ketoglutarate solution with a trypsin inhibitor for pancreas preservation in islet transplantation. *Transplantation*. 84(5): 655-8. 2007
- 2) Ikemoto M, Matsumoto S, Egawa H, Okitsu T, Iwanaga Y, Umemoto S, Itoh H, Murayama H, Fujita M. A case with transient increases in serum S100A8/A9 levels implying acute inflammatory responses after pancreatic islet transplantation. *Ann Clin Biochem*. 44(Pt 6): 570-2. 2007
- 3) Kim JY, Kina T, Iwanaga Y, Noguchi H, Matsumura K, Hyon SH. Tea polyphenol inhibits allostimulation in mixed lymphocyte culture. *Cell Transplant*. 16(1):75-83. 2007
- 4) 岩永康裕 (2007) 特集 糖尿病の新しい治療戦略 膵臓・膵島移植による糖尿病治療—現況と展望— 編集 稲垣暢也 62(4) 940-948 最新医学社
- 5) Iwanaga Y, Sutherland D.E.R., Papas K. K. Harmon J.V. Pancreas Preservation for Pancreas and Islet Transplantation *Current Opinion in Organ Transplantation* 2008 Aug;13(4):445-51.
- 6) 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 2008 第42集 152-156
- 7) 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 Vol.15 No.4 349-356, 2008 日本臓器保存生物医学学会

- 8) Sato E, Yano I, Shimomura M, Masuda S, Katsura T, Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Uemoto S, Inui K. Larger dosage required for everolimus than sirolimus to maintain same blood concentration in two pancreatic islet transplant patients with tacrolimus. *Drug Metab. Pharmacokinet*. 2009 24(2): 175-179
- 9) Noguchi H, Ueda M, Hayashi S, Kobayashi N, Okitsu T, Iwanaga Y, Nagata H, Liu X, Kamiya H, Levy MF, Matsumoto S. Comparison of trypsin inhibitors in preservation solution for islet isolation. *Cell Transplant*. 2009; 18(5): 541-7.
- 10) 佐々真理子、岩永康裕、山田祐一郎 膵島移植と再生医療 日本内科学会雑誌 98 巻 4 号 2009:817-823

2. 学会発表

招待講演

- 1) Iwanaga Y Islet Transplantation using Non-Heart Beating Donors The 17th International Association of Surgeons and Gastroenterologists and Oncologists (IASGO) 2007 Sep.5-8

パネルディスカッション

- 2) 岩永康裕、興津輝、川口道也、古山賢一郎、児玉創太、堀口雅史、米川幸秀、野口洋文、永田英生、松本慎一、川口義弥、上本伸二 当院における心停止および生体ドナー膵島移植症例の検討 第107回日本外科学会定期学術集会 2007. 4. 11

レクチャー

- 3) 岩永康裕 膵臓・膵島移植による糖尿病治療 第42回 糖尿病学の進歩 2008. 2. 15

シンポジウム

- 4) 興津 輝、岩永康裕、松本慎一、川口義弥、川口道也、福田一仁、豊田健太郎、堀口雅史、古山賢一郎、児玉創太、藪中重美、倉本科子、真鍋佳子、前川平、稲垣暢也、和田洋巳、上本伸二 京都大学における心停止ドナー膵島移植 第34回日本臓器保存生物医学会定期学術集会 2007. 11. 16
- 5) 興津 輝、岩永康裕、松本慎一、川口義弥、川口道也、豊田健太郎、福田一仁、野口洋文、永田英生、堀口雅史、古山賢一郎、児玉創太、前川平、稲垣暢也、和田洋巳、上本伸二 膵島分離技術改良による膵島移植の可能性の拡大 第35回膵・膵島移植研究会 2008. 3. 8
- 6) 岩永康裕、David E. R. Sutherland、Angelika C. Gruessner、米川幸秀、川口道也、川口義弥、上本伸二 International Pancreas Transplant Registry 第44回日本移植学会 2008. 9.20

一般演題

- 7) 野口洋文、上田路子、林衆治、興津 輝、岩永康裕、永田英生、小林直哉、松本慎一 膵島移植のための膵保存におけるウリナスタチンとメシル酸ナファモスタットの比較 第34回日本臓器保存生物医学会定期学術集会 2007. 11. 16
- 8) 興津 輝、岩永康裕、川口義弥、川口道也、上本伸二、渋谷佑一、岡林孝弘、堀見忠司、野村伊作、高原史郎 免疫抑制維持療法にステロイドを併用する腎移植後膵島移植2例の報告 第43回日本移植学会 2007. 11. 23
- 9) 藪中重美、井山なおみ、梅谷由美、澁谷直美、興津 輝、岩永康裕、豊田健太郎、福田一仁、浜本芳之、井澤ひとみ、川口義弥、川口道也、上本伸二 膵島移植患者における移植後患者満足についての検討ー膵島廃絶症例の経過を通して移植コーディネータの関わり方 第43回日本移植学会 2007. 11. 23

- 10) 米川幸秀、Hui-Jian Zhang、松本秀一朗、田中智浩、穴澤貴行、小林隆、岩永康裕、興津輝、上本伸二、David E. R. Sutherland 自家膵島移植のコンタミネーションについて 第36回膵・膵島移植研究会 2009. 2. 28
- 11) 藪中重美、井山なおみ、梅谷由美、澁谷直美、興津 輝、岩永康裕、福田一仁、豊田健太郎、浜本芳之、上本伸二 初回膵島移植後に腎不全を来した腎移植後再膵島移植を受けた症例におけるQOLの変化について 第36回膵・膵島移植研究会 2009. 2. 28
- 12) 金宗潤、岩永康裕、上本伸二 マウス膵上皮系非内分泌細胞を用いたインスリン分泌細胞への旋回分化法の検討 第8回日本再生医療学会 2009. 3. 5
- 13) Iwanaga Y、Matsumoto S、Noguchi H、et al. Kyoto Islet Isolation Method allows efficient islet retrieval from young donor pancreas for clinical use. International Pancreas and Islet Transplant Association 2009.10.12
- 14) 金宗潤、岩永康裕、上本伸二 分化膵島様組織の移植によるマウス in vivo 血糖安定化の検討 第9回日本再生医療学会 2010. 3. 6

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許出願

金宗潤、岩永康裕、上本伸二、川口義弥

「膵島前駆細胞と血管内皮細胞の複合体による膵島様組織への分化促進法」

特願 2010-61404

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

総合研究報告書

探索医療の成果としての膵島移植医療の確立

分担研究者 里見 進 東北大学病院長

研究要旨

本探索研究の最終目標は、膵島移植を医療として広く普及していくための基盤技術を構築することである。そのため、本開発研究においては、膵島移植の臨床探索試験を再開していく上で有用な開発をいくつか成功させてきた。その結果、Serva 酵素や新規に考案した新規膵島評価法が、前臨床試験において有効であることが示されたため、今後本研究の主目的であるヒト膵臓による探索的臨床研究へと発展させていくことが望まれる。また新たに開発した初の膵島専用培養・移植用デバイスは、分離膵島のバイアビリティー向上をもたらすばかりではなく、分離操作の安全性・迅速性を飛躍的に促進させ、膵島移植を医療として普及していく上で大きく貢献するものと思われる。今後、再開される臨床膵島移植の現場において、高度医療評価制度のもと、その安全性や有用性を実際のヒト膵島により検証し、我が国発の技術基盤として構築していく予定である。

A. 研究目的

本邦における探索医療の良き模範例を形成する事を目的に本研究を立ち上げたが、膵島分離用酵素にウシ成分が

混入している事が発覚したため、現在まで世界的に膵島移植が一時停止の状態となっている。はからずも今回、これまでのゴールドスタンダードであった Roche 社の Liberase HI が使用で

きなくなったため、それに替わり得る代替酵素の探索的臨床研究が急務となっている。この観点に立ち、まず Serva 社の酵素が代替品となり得るかの検討を行った。Serva 社の酵素は、これまでも幾つかの膵島分離センターにて使用されてきたが、その品質が Roche 社の物に劣り、臨床応用が困難である事が報告されてきた。今回まず我々はこの酵素を臨床応用する事が可能であるかを、前臨床モデルである温阻血を被ったブタ膵臓を使用し検討を行った。さらにこういった新規酵素の有用性を検証するためには、精度の高い膵島機能評価法を構築する事が必須である。これまで信頼に足る膵島機能評価法は存在せず、この事自体、膵島移植エリアにおける大きな世界的課題となっている。そのため次に我々は、独自に考案した新規膵島評価システムの探索的臨床研究へ向けた前臨床研究にも着手した。さらに移植前における膵島グラフトの保存方法に関しても、酸素透過性に優れ膵島の凝集を起こしにくい新規至適材質をスクリーニングし、膵島細胞の質の向上をもたらす革新的培養・移植デバイスの構築に取り組んだ。また、移植後早期の膵島グラフト生着不全に膵島自身が発現する炎症性メディエーターが関与していることが報告されているため、本研究においては、脳死および膵島分離操作に伴

う阻血が分離膵島の発現する TF や MCP-1 といった炎症性メディエーター発現へ及ぼす影響についても検討を行った。

B. 研究方法

(I) 臨床膵島移植再開へ向けた Serva 酵素の有用性に関する検討

臨床疑似モデルとして、温阻血を約 40分被ったブタ膵臓を使用し膵島分離実験を行った。東北大学にてこれまでに行われた Serva 群による膵島分離 (n=3) と、直前に行われた Liberase 群による膵島分離 (n=6) の結果を比較検討した。Liberase 群においては 4ロット、Serva 群においては 1ロットの collagenase が使用された。

(II) 非侵襲性呼吸計測技術の発展的活用による東北大式膵島評価法の確立

分離されたラット膵島に heat shock を 0、40、50、60、80秒加えた (各群 n=6)。膵島呼吸測定法、膵島呼吸活性の糖負荷による変動を計測する糖負荷膵島呼吸活性法、糖負荷膵島機能試験、ADP/ATP ratio、Insulin/DNA、Tripan Blue test と分離膵島による同

種同系糖尿病ラットの移植効果の相関について検討を行った。

(III) 脳死および膵島分離操作が膵島の発現する炎症性メディエーターへ及ぼす影響に関する検討

本研究においては、ドナーとして脳死ラットモデルを使用し、脳死および膵島分離操作に伴う阻血が分離膵島のバイアビリティー、および発現する Tissue Factor (TF) や MCP-1 へ及ぼす影響に関し検討を行った。

(IV) 臨床に準じ、温阻血を30分被ったブタより膵島分離実験 (n=20) を行い、(I) 従来法である培養フラスコ (II) 市販血小板用培養バッグ (III) ニプロ (株) と共同開発した新規開発デバイス の三群に分け膵島を約24時間、37度5% CO₂下に培養した。培養後膵島の残存率、機能テスト (*in vitro* 糖負荷試験)、バイアビリティーテスト (ADP/ATP assay) を評価し、各デバイスの比較検討を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験においては、東北大学における動物実験に関する指針 (S63. 3. 24) に従い、十分なる愛護精神をもってできるだけ動物に苦痛を与えぬように配慮した。

C. 研究結果

(I) 膵組織消化に要する時間及び膵組織消化率に両群間で差は認めず、膵島収量にも有意な差は認めなかった (Liberase 群 vs Serva 群 : 9999±1173 vs 8978±1472 IEQs)。また、両群間において分離膵島の機能およびバイアビリティーにも差を認めなかった。

(II) 糖負荷膵島呼吸活性、呼吸活性基礎値、ADP/ATP assay、糖負荷試験と移植効果との間に有意な相関を認めた ($\rho = 0.80, 0.71, -0.66, 0.53$)。Insulin/DNA 及び Tripan Blue test は移植効果との間に相関を認めなかった ($\rho = -0.47, 0.23$)。糖負荷膵島呼吸活性法においては、呼吸測定法と糖負荷試験を組み合わせる手法と同等である 91%の的中率が得られた。

(III) 脳死群はコントロール群と比し、収量が低下する傾向にあり (脳死群

2110±231 IEQs; コントロール群 2390±528 IEQs; p=0.19)、純度は有意に低下した (脳死群 87.7±7.5%; コントロール群 97.0±2.6%; p=0.002)。

ATP/DNA 比および呼吸活性指数は、計測時点に関わらず両群間に差を認めなかった。

膵臓組織の TF および MCP-1 mRNA レベルは、両群間で差を認めなかった。TF の mRNA レベルは、コントロール群に比し脳死群で有意に発現が上昇した (TF/GAPDH 脳死群 0.148±0.010; コントロール群 0.061±0.0096; p=0.0004)。同様に、MCP-1 の mRNA レベルも、コントロール群に比し脳死群で有意に発現が上昇した (MCP-1/GAPDH 脳死群 0.240±0.035; コントロール群 0.140±0.007; p=0.008)。

(IV)膵島残存率は (I) 21.9±4.7、(II) 19.8±7.8、(III) 37.4±6.4%であり、新規開発デバイスにてより多くの膵島が保たれる事が判明した。*In vitro* 糖負荷試験においては、新規開発デバイスにて培養された膵島の stimulation index が有意に高値を示した (p=0.04)。バイアビリティーテストにおいても、新規開発デバイスにて培養された膵島の ADP/ATP ratio はフラスコに比べ有意に低値を示し、ア

ポトーシスに陥る膵島の割合を減弱させる事が判明した (新規開発デバイス : 0.06±0.02 vs フラスコ : 0.14±0.03、p=0.04)。

D. 考察

本研究により脳死状態は分離膵島における TF および MCP-1 の発現上昇をもたらすが、膵島分離操作の影響を受けない膵臓組織には炎症性メディエーターの発現上昇を引き起こさないことが判明した。この差異は膵島分離操作中に生じる阻血障害、その中でも特に消化過程における温阻血障害に起因するものと推察された。しかし一方で脳死の影響を受けていないコントロール群では、分離膵島における炎症性メディエーターの発現上昇は確認されなかった。したがって分離操作中に生じる阻血障害単独では、分離膵島の炎症性メディエーター発現を惹起するには不十分であると考えられる。以上の検討結果より、脳死は分離膵島の炎症性メディエーター発現を誘導するイニシエーターの役割を果たしており、さらに分離操作という阻血障害が加わることにより発現上昇が顕在化すると考えられた。

一方、本開発研究においては、膵島移植の臨床探索試験を再開していく上

で有用な開発をいくつか成功させ、Serva 酵素も、新規に考案した新規膵島評価法も、前臨床試験において科学的にその有効性が証明されたため、今後本研究の主目的であるヒト膵臓による探索的臨床研究へと発展させていくことが望まれる。また新たに開発した初の膵島専用培養・移植用デバイスは、分離膵島のバイアビリティー向上をもたらすばかりではなく、分離操作の安全性・迅速性を飛躍的に促進させ、膵島移植を医療として普及していく上で大きく貢献するものと思われる。今後、再開される臨床膵島移植の現場において、高度医療評価制度のもと、その安全性や有用性を実際のヒト膵島により検証し、我が国発の技術基盤として構築していく予定である。

E. 結論

(I) Serva 酵素は、臨床疑似モデルであるブタ膵島分離に有効であった。

(II) 迅速、簡便、高精度である糖負荷膵島呼吸活性法は、移植効果を短時間で的確に予見し得る理想的な膵島評価法である。

(III) 脳死は分離膵島のバイアビリティーや機能を低下させる以前に、一早

く炎症性メディエーター発現を誘導するイニシエーターとしての役割を果たしており、さらに分離操作という阻血障害が加わることにより発現上昇が顕在化することが判明した。

(IV) 新規膵島細胞用デバイスは、簡便性・清潔性・酸素透過性に優れており、培養から移植までの一連の操作時間を大幅に短縮し得るのみならず、細胞のクオリティーを良好に保ち得ることが判明した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Brain death in combination with warm ischemic stress during isolation procedures induces the expression of crucial inflammatory mediators in the isolated islets

Saito Y, Goto M, Maya K, Ogawa N, Fujimori K, Kurokawa Y, and

Satomi S

Cell Transplantation :2010 in press

2. A novel predictive method for assessing the quality of isolated pancreatic islets using a scanning electrochemical microscopy

Goto M, Abe H, Ito-Sasaki T, Goto M, Inagaki A, Ogawa N, Fujimori K,