

Fig. 3. 移植後 M 値の推移

②HLA 抗体検査

平成 25 年度は、登録前と登録 1 年後の HLA 抗体スクリーニングをそれぞれ 3 例と 2 例、計 5 例実施した。

③EB ウイルスモニタリング

移植後患者の EB ウイルスモニタリングを 4 回実施した。結果は全て陰性であった。

D. 考察

平成 25 年 9 月の脳死ドナーを用いた膵島分離では十分な膵島収量が得られず、移植には至らなかった。10 月の膵島分離は成功し、本邦初の脳死ドナー膵島移植を実施した。

心停止ドナーよりも条件が良いとされる脳死ドナーを用いても、必ずしも移植基準を満たすとは限らず、9 月の膵島分離では膵島自身が小さく十分な収量を得ることが出来なかった。しかし、若いドナーで、分離膵島の形態が良く、収量以外の点においては、経験的に非常に質の良い膵島と考えられた。移植基準である収量：5000 IE/kg 以上が一概に良いのかどうか、質が良ければ現行の収量基準より

も少なくとも移植効果が得られるのではないか、これらの点は今後の検討課題である。また分離膵島の質の評価方法についてもより簡便で精度の高い方法の開発が待たれる。

一方、2 回の脳死ドナーからの膵臓摘出を行い、これまで膵臓移植に適さない時には使用されていなかった膵臓を膵島移植には使用できることを日本臓器移植ネットワーク等のドナーあっせん関係者に周知させることが出来た。膵島移植が臓器の有効利用に寄与することを示すことができ、大変意義のあることであった。また、実際に行われたことで、膵島移植への脳死ドナー膵の提供に関するシステム上の問題点が明瞭になり改善された。従って、今後さらに症例は増え、円滑に実施されると考えられる。

E. 結論

新規免疫抑制療法の臨床効果及び安全性の評価のための心停止ドナー膵島移植の臨床試験は、平成 24 年 6 月より開始となった。平成 25 年 4 月からは脳死ドナー膵も用いることが出来るようになり、京都大学では同年 9 月と 10 月に脳死ドナーを用いた膵島分離を行った。後者では分離膵島が移植基準を満たし、本邦初の脳死ドナー膵島移植が実施され、本臨床試験第 1 例目となった。移植後に内因性のインスリン分泌が確認され、移植 1 ヶ月後血糖値の不安定性は改善した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- (1). 金宗 潤, 岩永康裕, 増井俊彦, 水本雅己, 高折恭一, 上本伸二. 再生膵島移植の臨床応用を目指した培養ヒト膵管上皮細胞のインスリン産生細胞膵への可塑性と癌原性の解析. 第49回日本移植学会総会 2013.9.5-7 京都
- (2). 岩永康裕, 上本伸二. 膵・膵島移植: Up to Date. 第50回日本糖尿病学会近畿地方会 2013.11.23 京都
- (3). 伊藤宗洋, 豊田健太郎, 岩永康裕, 川口道也, 井上彩美, 和倉健朗, 佐藤雄一, 岡島英明, 上本伸二, 稲垣暢也. 先進医療として脳死ドナーからの膵島移植を実施した1型糖尿病の一例. 第8回糖尿病フォーラム 2014.2.22 大阪
- (4). 田中友加里, 岩永康裕, 川口道也, 梅谷由美, 上本伸二. 膵島移植臨床試験におけるレシピエントコーディネーターの役割. 第41回日本膵・膵島移植研究会 2014.3.7-8 名古屋
- (5). 岩永康裕, 川口道也, 井山なおみ, 川口義弥, 上本伸二. 脳死下膵島提供2例の経験 第41回日本膵・膵島移植研究会 2014.3.7-8 名古屋
- (6). 豊田健太郎, 岩永康裕, 川口道也, 伊藤宗洋, 井上彩美, 和倉健朗, 佐藤雄一, 岡島英明, 上本伸二, 稲垣暢也. 先進医療として脳死ドナーからの膵島移植を実施した1型糖尿病の一例.

第41回日本膵・膵島移植研究会

2014.3.7-8 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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）
分担研究報告書

重症低血糖発作を合併するインスリン依存性糖尿病に対する
脳死および心停止ドナーからの膵島移植

研究分担者 伊藤壽記 大阪大学大学院医学系研究科生体機能補完医学寄附講座 教授

研究要旨

【背景】本邦でも、脳死下および心停止下の臨床膵島移植が再開され、その結果が期待されるが、いずれにしても臨床膵島移植の長期成績は改善の余地がある。今回我々は、膵島と幹細胞の共移植の成績を改善し得る、表面マーカーを探求した。【方法】マウス脂肪由来間葉系幹細胞(ADSC)を、CD90high 分画および CD90low 分画にソート後、レンチウイルスベクターを用いて山中 4 因子を導入、リプログラミングし、相対的効率を確認することで、新規マーカーを探求した。【結果】マウス ADSC を CD90high および low 分画に分離後、リプログラミング効率を解析したところ、CD90high 分画は CD90low 分画と比較して、リプログラミング効率は高かった（116.5%および 74.7%）。【結語】これらの方法を用いることで、移植に最適な、幹細胞亜分画のスクリーニングおよび、膵島移植の成績を改善しうることが示唆された。

A. 研究目的

無自覚性低血糖発作により、入退院を繰り返すような 1 型糖尿病（Brittle 糖尿病）に対しては、膵臓移植あるいは膵島移植を考慮する。ただし膵臓移植では手術侵襲が、膵島移植では長期成績が問題となる。また共通の問題点として、終生の免疫抑制が必要となり、この副作用が時として致命的となることもある。そこで今回の研究では、臨床膵島移植の成績を改善するための戦略を多面的なアプローチで改善し、膵島移植が広く臨床に根付く新技術を開発することを目的として研究計画を立案した。

B. 研究方法

マウス ADSC を CD90high および low

分画に分離後、レンチウイルスベクターを用いて山中 4 因子を導入、リプログラミング効率を解析した。

C. 研究結果

CD90high 分画は CD90low 分画と比較して、リプログラミング効率は高かった（論文 1）。

D. 考察

今後は、CD90high 分画を用いた膵島共移植モデルでその効果を確認する予定。

E. 結論

CD90 亜分画は共移植の成績を改善し得るマーカーである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Kawamoto K, Konno M, Nagano H, Nishikawa S, Tomimaru Y, Akita H, Hama N, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Tanemura M, Ito T, Doki Y, Mori M, Ishii H. CD90 (Thy-1)-high selection enhances reprogramming capacity of murine adipose-derived mesenchymal stem cells. *Disease Markers* 35:573-579, 2013.

(2) Machida T, Tanemura M, Ohmura Y, Tanida T, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Eguchi H, Ito T, Nagano H, Mori M, Doki Y, Sawa Y. Significant improvement in islet yield and survival with modified ET-Kyoto solution: ET-Kyoto /Neutrophil elastase inhibitor. *Cell Transplant.* 22:159-173,2013.

2. 学会発表

(1) 古川健太, 川本弘一, 種村匡弘, 秋田裕史, 濱直樹, 和田浩志, 小林省吾, 江口英利, 森正樹, 土岐祐一郎, 伊藤壽記, 永野浩昭. 膵移植において大動脈への吻合を要した 2 症例. 第 49 回日本移植学会総会 2013.9.5-7 京都

(2) 富丸慶人, 川本弘一, 種村匡弘, 濱直樹, 和田浩志, 小林省吾, 江口英利, 伊藤壽記, 土岐祐一郎, 森正樹, 永野浩昭. 膵移植患者におけるタクロリムスからタクロリムス徐放性製剤

への切替症例の検討. 第 49 回日本移植学会総会 2013.9.5-7 京都

(3) 川本弘一, 江口英利, 小林省吾, 富丸慶人, 秋田裕史, 濱直樹, 和田浩志, 種村匡弘, 伊藤壽記, 森正樹, 土岐祐一郎, 永野浩昭. 高齢ドナーからの膵臓移植の可能性. 第 49 回日本移植学会総会 2013.9.5-7 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

実臨床においては、難治性遺伝性膵炎症例に対し、残膵全摘および自家膵島移植を施行、経過良好であり、術後も C ペプチドは検出されており、膵島移植実施可能であることを示した。また、膵島移植に一定の需要があることを改めて示した。

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）
分担研究報告書

重症低血糖発作を合併するインスリン依存性糖尿病に対する
脳死および心停止ドナーからの膵島移植

研究分担者 安波洋一 福岡大学医学部再生・移植医学講座 教授

研究要旨

福岡大学で雇用した膵島移植ドナーコーディネーターを中心に、福岡大学が担当する九州地区、特に福岡県に於いて臓器提供に関する啓蒙活動を積極的に行った。平成 25 年度の心停止ドナー情報は 2 件あったが膵島移植の為の膵臓提供には至らず、膵島分離の機会はなかった。この他に、膵島移植と同一の組織移植カテゴリーに分類される角膜移植に関しては 7 例のドナー情報の内 4 例の提供があり、福岡大学病院で 8 眼への移植が実施された。平成 25 年度は臨床膵島移植のシュミレーションとして 6 回のブタ膵島分離実験を行い、膵島分離技術の向上に努めた。研究としては臨床膵島移植の最も重要な課題である移植早期膵島障害に関して、ドナー単離膵島を標的にした新規治療法を開発した。この治療法は従来のレシピエントを対象にした治療法とは異なり、レシピエントの副作用がなく、早期の臨床導入ならびにその成果が期待できる。

A. 研究目的

死後に提供された膵臓から分離した膵島を、血糖不安定性を有するインスリン依存状態糖尿病患者に移植する膵島移植療法において、同種膵島移植片に対する免疫反応を制御する新規免疫抑制療法の臨床効果及び安全性の評価のため、多施設共同の臨床試験実施を目的とした。また、同時に臨床膵島移植で最も重要な課題である移植早期膵島障害について、新規制御法開発を目的に、実験的検討を行った。

B. 研究方法

臓器提供に関して、福岡大学が担当する九州地区、特に福岡県に於いて、専任コーディネーターが中心になり啓蒙活動を積極的に行った。
またブタ膵臓を用いて臨床膵島移植の膵

島分離シュミレーションを行った。

研究では臨床膵島移植で最も重要な課題である移植早期膵島障害に対して、マウス膵島移植の実験系で従来の手法とは異なるドナー単離膵島を標的にした新規治療法開発を試みた。

（倫理面への配慮）

臨床膵島移植は福岡大学病院の倫理審査委員会で承認されている。動物実験は福岡大学アニマルセンターの承認を受けている。

C. 研究結果

平成 25 年度は 2 回の心停止臓器提供情報があったが、膵島移植の為の膵臓提供には至らなかった。臨床膵島移植の膵島分離シュミレーションに関して、6 回のブタ膵島分離を行い、膵島分離技術の向上を

図った。

実験的検討では移植早期膵島障害に関して、従来のレシピエントを対象にした手法とは異なり、単離ドナー膵島を標的にした新規制御法を開発した。

D. 考察

平成 25 年度の心停止臓器ドナー情報は 2 件で、いずれも提供には至らなかった。本年度は特にドナー情報が少なかった。今後は脳死ドナーで膵臓移植に使用されない膵臓が膵島移植に提供されることになっており、今後の膵島単離、移植が増加することが期待できる。研究面では新規の移植早期膵島障害制御法を開発でき、今後の臨床導入の方向性を示すことができた。

E. 結論

福岡大学が担当する九州地区では膵島移植の体制整備は完了し、今後脳死ドナーからの膵島移植実施に際し、円滑な対応が期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著

- (1) Mera T, Itoh T, Kita S, Kodama S, Kojima D, Nishinakamura H, Okamoto K, Ohkura M, Nakai J, Iyoda T, Iwamoto T, Matsuda T, Baba A, Omori K, Ono J, Watarai H, Taniguchi M, Yasunami Y. Pretreatment of donor islets

with the Na⁺/Ca²⁺ exchanger inhibitor improves the efficiency of islet transplantation. *Am J Transplant* 13(8): 2154-2160, 2013

- (2) Itoh T, Nitta T, Nishinakamura H, Kojima D, Mera T, Ono J, Kodama S, Yasunami Y. HMGB1-mediated early loss of transplanted islets is prevented by anti-IL-6R antibody in mice. *Pancreas* in press.

総説

- (1) 安波洋一. NKT 細胞制御による移植膵島生着. *血液フロンティア* 23(7): 47-52, 2013
- (2) 安波洋一. 膵臓内 NKT 細胞の免疫応答の解析: 膵島の肝内移植拒絶反応の制御に関連して. *Surgery Frontier* 20(4): 77-83, 2013

2. 学会発表

国内学会

- (1) 金城亜哉, 岩田誠司, 伊東 威, 小玉正太, 安波洋一. 福岡県における組織移植コーディネーターの活動報告. 第 12 回日本組織移植学会 2013.8.3 さいたま
- (2) 田中智子, 伊東 威, 松本征仁, 小島大望, 米良利之, 西中村瞳, 小玉正太, 小野順子, 柳瀬敏彦, 安波洋一. 脂肪組織由来間葉系幹細胞による移植膵島生着率改善と膵島量増加効果. 第 40 回日本膵・膵島移植研究会 2014.3.7-8 名古屋

国際学会

- (1) Itoh T, Mera T, Kita S, Kojima D, Nishinakamura H, Ono J, Iwamoto T,

Kodama S, Yasunami Y. Pretreatment of Donor Islets with a Specific Inhibitor of Na⁺/Ca²⁺ Exchanger Prior to Transplantation Improves the Efficiency of Islet Transplantation. The 13th Congress of the Asian Society of Transplantation 2013.9.2-6 Kyoto, Japan

- (1) Itoh T, Mera T, Kita S, Kodama S, Kojima D, Nishinakamura H, Iwamoto T, Omori K, Ono J, Watarai H, Taniguchi M, Yasunami Y. The early loss of transplanted islets is prevented by targeting Na⁺/Ca²⁺ exchanger of donor islets prior to transplantation. The 14th World congress of International pancreas and islet transplantation association 2013.9.24-27 Monterey, CA, USA
- (2) Yasunami Y. A novel strategy to improve the efficiency of islet transplantation targeting Na⁺/Ca²⁺ exchanger of donor islets prior to transplantation. The 12th Beta Cell Research and islet Transplantation Symposium 2013.11.23 Seoul, Korea

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

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 |
|------|---------|-----------|-----|------|-----|-----|-----|
| | 特になし | | | | | | |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイト | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|---------------------------|-------|-----------|------|
| 後藤満一, 穴澤貴行. | 細胞とヒトの多様なストレス応答 | Surgery Frontier. | 20(4) | 373-375 | 2013 |
| 後藤満一. | マウスの膵島分離から臨床試験へ. | Organ Biology. | 20(2) | 89-96 | 2013 |
| 鵜頭理恵, 大橋一夫, 後藤満一, 岡野光夫. | 細胞シート技術を用いた1型糖尿病の治療法の開発. | Diabetes Journal: 糖尿病と代謝. | 41(3) | 95-101 | 2013 |
| 後藤満一, 穴澤貴行. | アカデミアのTR拠点が創出する膵島移植のための戦略的アプローチ(ii)新規免疫抑制療法を併用する臨床膵島移植の開発. | 臨床評価. | 41(1) | 132-136 | 2013 |
| 穴澤貴行, 後藤満一. | 膵島移植症例登録報告(2012). | 移植. | 48(6) | 384-389 | 2013 |
| Nishimura R, Nishioka S, Fujisawa I, Shiku H, Shimada M, Sekiguchi S, Fujimori K, Ushiyama A, Matsue T, Ohuchi N, Satomi S, Goto M. | Tacrolimus inhibits the revascularization of isolated pancreatic islets. | PLOS ONE | 8(4) | e56799 | 2013 |
| Ohbayashi N, Matsumoto T, Shima H, Goto M, Watanabe K, Yamano A, Kato Y, Igarashi K, Yamagata Y, Murayama K. | Solution structure of clostridial collagenase H and its calcium-dependent global conformation change. | Biophysical Journal | 104 | 1538-1545 | 2013 |

| | | | | | |
|--|---|-----------------------|--------|-----------|------|
| Sakata N, Goto M, Motoi F, Hayashi H, Nakagawa K, Mizuma M, Yamaya H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Sawada S, Ottomo S, Okada T, Fukase K, Yoshida H, Ito T, Hirota M, Ishigaki Y, Sekiguchi S, Rikiyama T, Katayose Y, Fujimori K, Egawa S, Shimosegawa T, Katagiri H, Satomi S, Unno M. | Clinical Experiences in the Treatment of Pancreatic Arteriovenous Malformation by Total Pancreatectomy with Islet Autotransplantation. | Transplantation | 96 (5) | e38-e40 | 2013 |
| Nishimura R, Ushiyama A, Sekiguchi S, Fujimori K, Ohuchi N, Satomi S, Goto M. | Effects of glucagon-like Peptide 1 analogue on the early phase of revascularization of transplanted pancreatic islets in a subcutaneous site. | Transplantation Proc. | 45(5) | 1892-1894 | 2013 |
| Asami K, Inagaki A, Imura T, Sekiguchi S, Fujimori K, Masutani H, Yodoi J, Satomi S, Ohuchi N, Goto M. | Thioredoxin-1 attenuates early graft loss after intraportal islet trans-plantation in mice. | PLOS ONE | 8 (8) | e70259 | 2013 |
| Miyagawa S, Maeda A, Kawamura T, Ueno T, Usui N, Kondo S, Matsumoto S, Okitsu T, Goto M, Nagashima H. | A comparison of the main structures of N-glycans of porcine islets with those from humans. | Glycobiology | 24(2) | 125- 138 | 2014 |
| Jimbo T, Inagaki A, Imura T, Sekiguchi S, Nakamura Y, Fujimori K, Miyagawa J, Ohuchi N, Satomi S, Goto M. | A novel resting strategy for improving islet engraftment in the liver. | Transplantation | 97(3) | 280- 286 | 2014 |

| | | | | | |
|---|---|------------------|-------|-----------|------|
| Maruyama M, Kenmochi T, Akutsu N, Otsuki K, Ito T, Matsumoto I, Asano T. | A review of autologous islet trans-plantation. | Cell Medicine. | 5 | 59-62 | 2013 |
| 丸山通広, 剣持敬, 伊藤泰平, 坪尚武, 浅野武秀. | 膵・膵島移植における免疫抑制療法. | Organ Biology | 20 | 218-221 | 2013 |
| Kawamoto K, Konno M, Nagano H, Nishikawa S, Tomimaru Y, Akita H, Hama N, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Tanemura M, Ito T, Doki Y, Mori M, Ishii H. | CD90 (Thy-1)-high selection enhances reprogramming capacity of murine adipose-derived mesenchymal stem cells. | Disease Markers | 35 | 573-579 | 2013 |
| Machida T, Tanemura M, Ohmura Y, Tanida T, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Eguchi H, Ito T, Nagano H, Mori M, Doki Y, Sawa Y. | Significant improvement in islet yield and survival with modified ET-Kyoto solution: ET-Kyoto /Neutrophil elastase inhibitor. | Cell Transplant. | 22 | 159-173 | 2013 |
| Mera T, Itoh T, Kita S, Kodama S, Kojima D, Nishinakamura H, Okamoto K, Ohkura M, Nakai J, Iyoda T, Iwamoto T, Matsuda T, Baba A, Omori K, Ono J, Watarai H, Taniguchi M, Yasunami Y. | Pretreatment of donor islets with the Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger inhibitor improves the efficiency of islet transplantation. | Am J Transplant | 13(8) | 2154-2160 | 2013 |

IV. 研究成果の刊行物・別刷

特集によせて

福島県立医科大学臓器再生外科学

後藤 満一・穴澤 貴行

Mitsukazu Gotoh

Takayuki Anazawa

(教授)

2011年3月11日、岩手県沖から茨城県沖までの南北約500km、東西約200kmの広範囲な海底がこれまで長い年月をかけて堆積してきた大きなストレスは、一気にモーメントマグニチュード(Mw)9.0の観測史上最大の地震を誘発した。さらに、1000年に一度といわれる大津波となって東日本の海岸を襲った。予想外の津波の高さで、東京電力福島第一原子力発電所は冷却システムが破綻し、炉心融解が起こり、さらに水素爆発により原子炉は破壊され、放射性物質は広範囲に飛散した。発電所から半径20km圏内が「避難区域」となり、多くの人々が移動を義務付けられた。2013年9月現在、5万人以上の福島県民が県外に避難したままで、これらの人々のストレスは今なお継続している。この一連の経過をみると、通常の変動域を超えた大きな力(ストレス:刺激)は、物理的に恒常性を逸脱する変化を誘発し、社会

的に、さらにまた、人々の心にまで、非日常的なストレスを誘発しうると考えられる。これはまさに、ハンス・セリエが提唱した「ストレスは種々のストレスを誘導するストレッサー(物理的、科学的、生物的、心理的刺激)によって起こる」としたストレス学説を裏付けるものとも理解できる。

われわれ外科医は、治療を目的に患者にはストレッサーとなる手術療法を選択する。患者の手術に対するリスクを計算し、患者が耐えうる根治性の高い術式を選択する。無事退院していただくには、術前に患者のもつリスクをできるだけ低下させ、術後回復を早めるさまざまな周術期管理を計画する。そのなかで、計画された医学的な処置はもちろんのこと、患者との意思疎通と、患者家族を含むサポート体制を十分に構築しておくことが必須となる。

一方、ストレスをもう少し科学的・基礎的な視点から考えてみる必要がある。たとえば、手術を行えばどのようなストレス応答が励起され、そ

れが時間とともに収束されるのか、合併症が起こればどのような応答になるのかについて知っておく必要がある。手術をすれば、ストレス応答として局所からメディエーターが出て、全身に励起されるSIRS(systemic inflammatory response syndrome)としての反応が観察されるし、それを平常レベルに戻そうとするCARS(compensatory anti-inflammatory response syndrome)の反応が全身で起こる¹⁾(図1)。このような反応のなかで、たとえばコントロールできない重篤な感染症が加わった場合の病態とそれを読み取る検査データの推移についても正しい知識をもつ必要がある。

高次機能の集合体である生体ではなく、単一な細胞自体に目を向け、ストレスに対する反応をみればその応答性はより理解しやすくなる。たとえば、sublethalな刺激を受けた細胞が免疫不応答を誘導する動物実験のモデルであるが²⁾、細胞にgenotoxic stressを誘導するMitomycin-Cを30分間処置

Surgery Frontier 20(4): 13-15, 2013

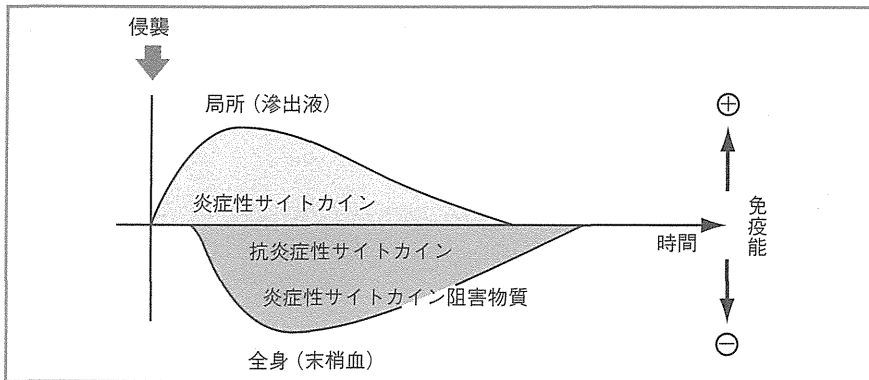


図1 侵襲後の炎症性・抗炎症性サイトカインの時間経過と局所—全身間の平衡
(文献1より改変引用)

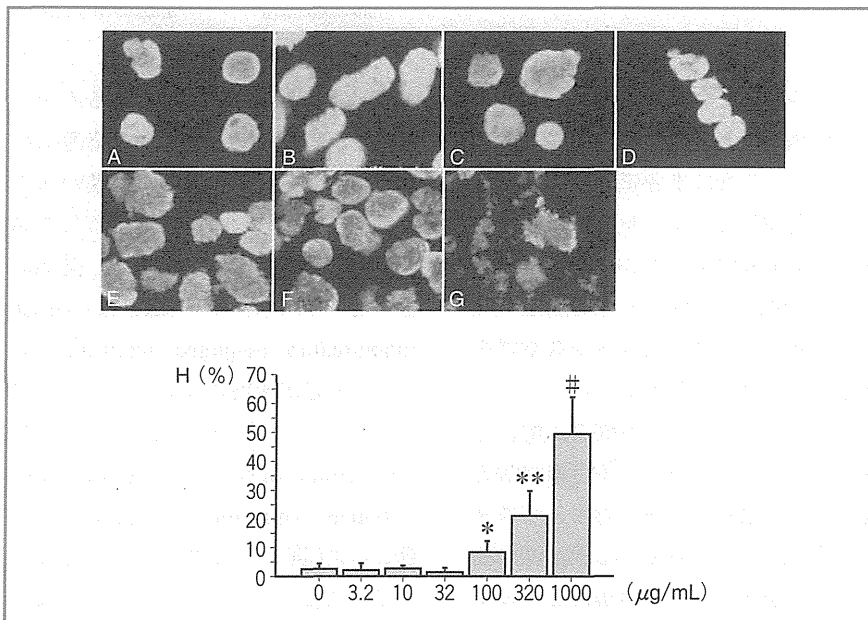


図2 Mitomycin-C 処置後の膵島細胞の viability
A (0), B (3.2), C (10), D (32) までは変化がないが, E (100), F (320), G (1000) では PI 陽性細胞が出現する。免疫不応答は 10 μg/mL の濃度で処置された膵島で最も強く表れた。() は単位 μg/mL を省略。
#: p < 0.001
*: p < 0.01
*: p < 0.05 vs A (0)
(文献2より改変引用)
(カラーグラビア p2 写真1参照)

したあとの、膵島細胞の viability をみてもみると、100 μg/mL 以上の濃度では細胞死が誘導される (図2)。それより少し低い濃度の 10 μg/mL の濃度で処理した群は、処置していない群に比して、その後3日間の培養後に誘導される細胞死が有意に抑制されることが明らかとなった。その機序として、Western blot の結果をみると、

apoptosis の経路には変化はなく、細胞周期停止が直接的に誘導され、細胞死に対する耐用性が獲得されていることが明らかとなっている³⁾。前述したように、これらの処置細胞では TGFβ の分泌が増していることもわかっている。

ストレスに対する応答は多様である。加えられるストレスが大きすぎると

irreversible な死に陥る。それより低いストレスの場合は直接死には至らないが、生体は積極的に反応している。たとえば、放射線ホルミシスのように⁴⁾、逆に生体にとって良好な結果を生み出しうる場合もある (図3)。これはわれわれが地球上に誕生し長年生存する過程のなかで、ストレスの存在をある閾値のなかで、ポジティブな刺激

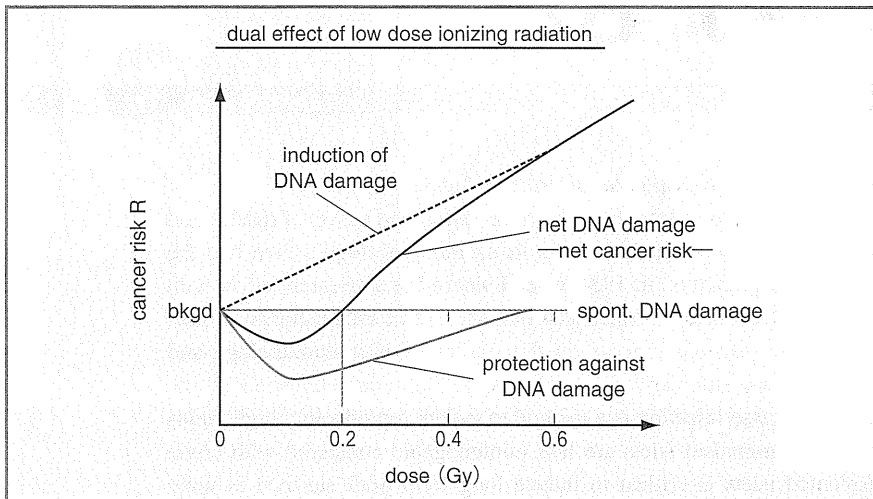


図3 低線量ではDNA障害からの保護作用が働き、発癌リスクが低下する
(文献4より改変引用)

として生存、分化、発達してきたことを示しているように思える。

さて、学問はいろいろな分野で進歩している。今回は細胞へのストレスがどのような関連疾患を引き起こしているのか、細胞内のストレスはどのように評価されどのように制御されようとしているのかについて、最近の知見をふまえて紹介いただくとともに、生体としてのストレスの原因とその応答を

どのように評価し、制御していくかについても、それぞれの領域の専門の先生方に概説していただくことにした。

文献

- 1) 小川道雄：局所のSIRS，全身のCARS—新しい概念の提唱—。救急医学23：1924-1927, 1999
- 2) Gunji T, Saito T, Sato Y, et al：Mitomycin-C treatment followed by culture produces long-term survival

of islet xenografts in a rat-to mouse model. Cell Transplant 17：619-629, 2008

- 3) Saito T, Saito T, Sato Y, et al：Mitomycin C treatment significantly reduces central damage of islets in culture. Pancreas 41：245-252, 2012
- 4) Feinendegen LE：Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis. Br J Radiol 78：3-7, 2005

マウスの膵島分離から臨床試験へ

後藤 満一*

REVIEW ARTICLE

From mouse islet isolation to clinical islet transplantation trial in Japan

My research started in 1979 to investigate counter-regulatory secretion and action of insulin and glucagon on glucose metabolism in pancreas auto/allografts using mongrel dogs. I then had the opportunity to study pancreas islet transplantation in 1984, when I worked as a research fellow with Prof. A. P. Monaco in New England Deaconess Hospital. The first success of establishment of islet isolation method in mouse facilitated research process on the studies of islet immunology and tolerance induction. Specific results are summarized as follows. 1) Stationary digestion of the pancreas following intraductal collagenase injection is a method to isolate reproducibly high yields of islets from rodent pancreata, 2) handpicked islets are less immunogenic compared with crude islets, 3) the number of transplanted islets is critical to induce long-term graft survival in non-immunosuppressed recipients, 4) further reducing immunogenicity could be obtained by using multiple donors with diverse histocompatibilities, 5) antilymphocyte serum has unique and potent actions on inducing tolerance through manipulation of donor and recipient immune system, 6) immunogenicity of islet graft can be altered by gamma-irradiation. Even today these results are fresh in my memory. I always believe in the words that "nature does not tell a lie" just as an exquisite wine served together with a matching appetizer. I conclude my talk with special thanks to distinguished researchers who have been involved in ongoing government-supported clinical islet transplantation trials in Japan (UMIN000003977).

Mitsukazu Gotoh*

key words : stationary digestion, immunogenicity of islets, multiple donors, antilymphocyte serum, clinical islet transplantation trial

筆者の研究テーマは、移植膵の拒絶反応における血糖制御能の評価であった。大阪大学の陣内外科では岡村 純先生を中心に肝移植の研究が進められてきた。神前外科となってからは、学内ではその流れをくむのは岡村先生のほか門田守人先生のみとなったが、門田先生の米国留学を契機に大きな研究プロジェクトの継続は難しくなり、比較的少人数でできる膵臓移植が研究室のテーマとして選択された。筆者が大阪大学に戻る1年前から、論文抄読にはじまり具体的な実験計画にも参加するようになった。偶々、膵臓移植の血糖制御能を研究テーマとして授かったが、不思議なもので、それがきっかけで、それに関連した研究や人々との出会いが展開していくものだと、改めて感心する。

本稿では、前半は膵臓の血糖制御能、移植膵の内分泌機能、移植膵の拒絶反応の診断について、後半は米国留学中のテーマであった膵島分離法、膵島の免疫原性、膵島の免疫寛容の誘導に関する研究結果について、最後に再開されるわが国の膵島移植について述べる。

血糖制御に関するB細胞とA細胞機能評価

移植膵の内分泌能は、高血糖と低血糖におけるB細胞とA細胞の分泌動態を指標とすることにした。動物は当時、手軽に保健所から供与される雑種成犬を使用した。

バルビタール静脈麻酔下に、ブドウ糖0.3 g/kg 静注後(静脈内耐糖試験, IVGTT), 60分後にインスリン0.5 U/kg 投与によるインスリントラランステスト

*Department of Regenerative Surgery, Fukushima Medical University
福島県立医科大学臓器再生外科科学講座

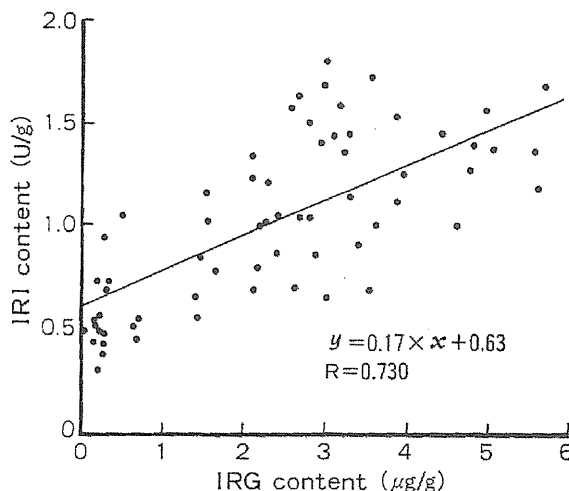
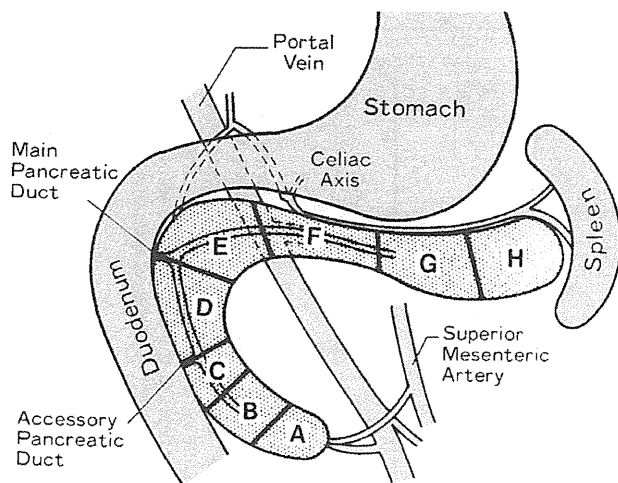


図1 イヌ膵における血中インスリン値と血中グルカゴン含量
IRI と IRG 含量は高い相関性を持つことがわかった。
(Gotoh M et al. Endocrinologia Japonica 34 : 843-847, 1987³⁾より)

(ITT)を経時的に行い、血糖とともに C-peptide、血中インスリン値(IRI)、血中グルカゴン含量(IRG)を測定した。イヌは胃に B 細胞と共存しないグルカゴン分泌細胞があり、これらの細胞は、アルギニン刺激には反応するが、インスリン低血糖刺激には反応しない。のちにストレプトゾトシン(STZ)投与によって糖尿病にしたイヌで検証を行った¹⁾。

膵臓内の B 細胞と A 細胞の分布

膵臓内の B 細胞、A 細胞の分布はヒトではその解剖学的位置で異なることが報告されており²⁾、イヌでも検証が必要であった。ブーメランのような膵臓を十二指腸付着部から脾臓までを解剖学的な位置を同定しながら 8 区分し、それぞれについてインスリンとグルカゴン含量を測定した。十二指腸付着部から脾臓にかけて徐々にインスリンとともにグルカゴン含量が上昇すること、また、両者の間には高い相関性が保たれていることが明らかになった(図 1)³⁾。

同じ相関性は Gersell ら²⁾の報告例からも観察され、膵臓の解剖学的な位置における B 細胞と A 細胞の機能的連関を推測させるものだと考察した。

膵切除イヌと自家部分膵移植イヌの内分泌機能の比較

このように、解剖学的な位置により B 細胞、A

細胞の分布が異なる事実から、移植膵の内分泌能を切除膵と比較する場合は、同じ解剖学的な部分膵を比較することが必要と考えられた。消化管吻合を回避した移植モデルとして、ヒトの体尾部に相当する左葉を残存させるモデルを作製し、両者を比較した。

膵切除イヌでは、十二指腸付着部の膵臓は十二指腸のアーケードは残すように細やかな操作を繰り返し切除する。温存した体尾部の膵管は十二指腸と吻合する方法をとった。部分膵移植モデルは、膵全摘後、その体尾部を使い、脾動静脈を、左の腸骨動静脈に吻合し、膵管は左腎摘出後、残存尿管と吻合した。

両者において IVGTT, ITT を術前・術後 3 カ月にわたって施行し比較したが、どのパラメーターをみても差がなかった(図 2)⁴⁾。移植膵は静脈ドレナージ、神経支配の有無において、切除犬の残存膵とは異なるが、両細胞の分泌動態や、血糖制御能には大きな差異がみられなかったことより、移植膵には同部位を残存せしめた膵臓と同じ内分泌機能を期待できると考えられた。

拒絶反応における内分泌反応の推移

つぎに、同種移植膵の拒絶反応ではどのように変化するであろうか、という疑問にこたえるため、免疫抑制剤を投与しないモデルを用いて検討した⁵⁾。

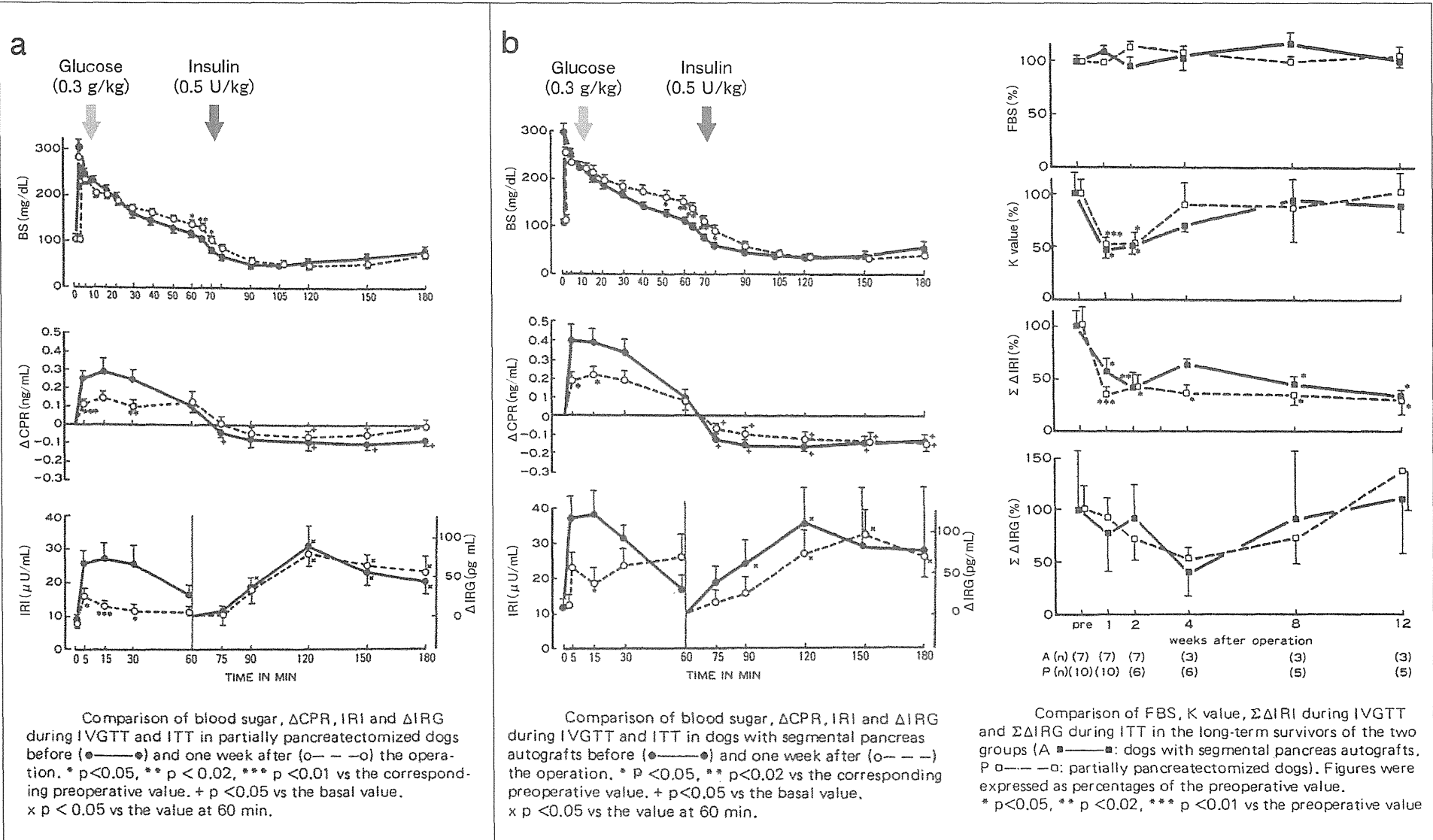


図2 膵体尾部移植膵の内分泌機能
 a: 部分膵切除, b: 部分膵自家移植. (Gotoh M et al. Horm Metab Res 12: 128-130, 1982⁴⁾より)

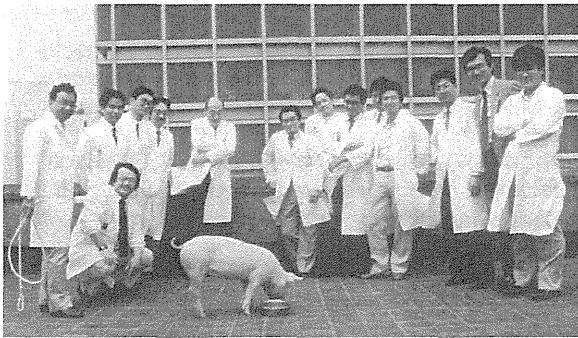


図3 阪大病院の屋上の飼育小屋から望む (1980年代)

移植臓の拒絶は血糖値の突然の上昇とともに出現する。拒絶完了までの間、複数回、内分泌機能の推移を観察できた動物実験の結果では、インスリン分泌は低下していくが、グルカゴン分泌は逆に上昇する現象がみられた。これが、B細胞、A細胞の拒絶に対する脆弱性に関係する量的なものか、あるいは、B細胞とA細胞の機能的連関の障害によるものかは、究明できていない。B細胞減少に伴いA細胞の過剰分泌がみられるのはアルギニン刺激の反応であって、低血糖刺激ではみられない事象であるからである。

膵液尿路系ドレナージモデルにおける尿中アミラーゼを指標とした移植臓拒絶反応の診断

当時、いや、現在もであろうが、移植臓の拒絶反応の同定はきわめて難しかった。血糖制御能では移植臓の拒絶を早期に予知できないが、外分泌機能は指標になるであろうか。ちょうど、このモデルは膵管尿管吻合をしているので、移植臓の外分泌機能は尿中のアミラーゼとして同定できると推測した。

当時、阪大病院の旧館の屋上に犬舎があり、移植犬の状態把握や散歩にも犬舎の前の広場を利用していた。また、肝移植のブタも飼育していた(図3)。多くの移植犬は外に連れ出すと、お気に入りの空間を見つけ出し排泄活動を行う。試験管を持ち、手早く自分の手を汚すことなく採尿するタイミングと手技を身につけた。

これらの貴重なサンプルを用い、拒絶による血糖値の上昇を起点に、それより前の血中と尿中のアミラーゼの推移を比較すると、少なくとも48時

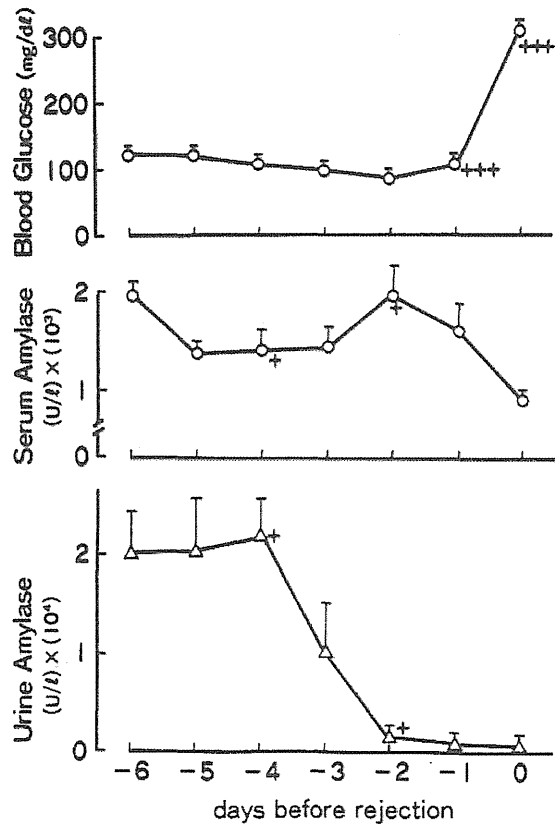


図4 尿中のアミラーゼが拒絶のマーカーとなることがわかる

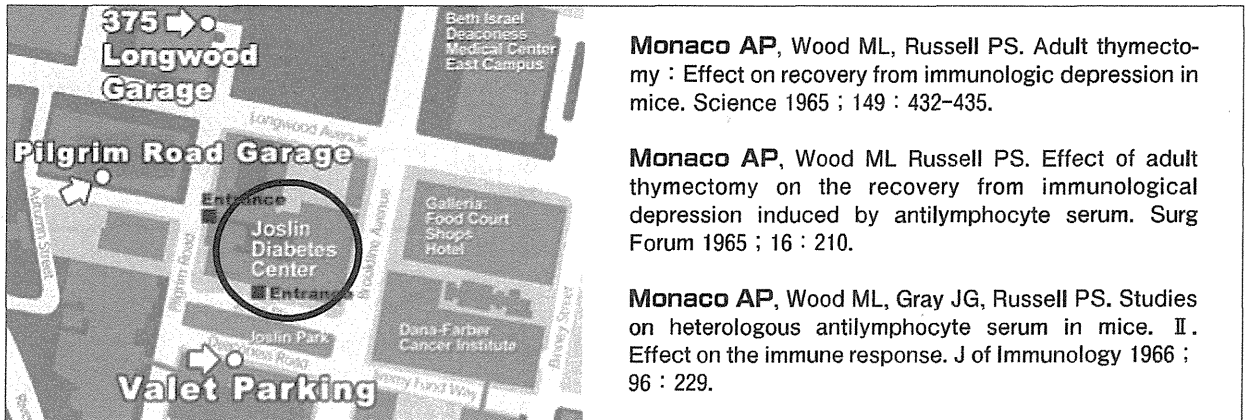
Postoperative blood glucose, serum, and urine amylase levels in acutely rejected allografts. *P<0.05. ***P<0.01.

(Gotoh M et al. Transplant Proc 16: 781-782, 1984⁶⁾より)

間前には尿中アミラーゼは数万から数百の単位まで激減することが観察された(図4)⁶⁾。この現象は免疫抑制下でも再現できることが Sutherland らにより報告⁷⁾されているが、現在でも膀胱ドレナージを行う術式では臨床的に広く利用されている。

膵島分離法の開発

1984年7月より2年間、米国ボストンのハーバード大学における抗リンパ球血清を使った免疫寛容の研究で有名な Anthony P. Monaco 教授のもとに留学した(図5)。そこには牧 隆先生がおられ、公私ともにお世話になった。Monaco 教授は New England Deaconess 病院で腎移植を含む臨床を行っておられたが、併設されている Joslin Clinic は糖尿病治療のメッカで、膵島移植の実用化も将来的な研究、臨床ターゲットにしていた。Monaco 教授からのメッセージは、「ぜひ膵島移植



Monaco AP, Wood ML, Russell PS. Adult thymectomy : Effect on recovery from immunologic depression in mice. *Science* 1965 ; 149 : 432-435.

Monaco AP, Wood ML, Russell PS. Effect of adult thymectomy on the recovery from immunological depression induced by antilymphocyte serum. *Surg Forum* 1965 ; 16 : 210.

Monaco AP, Wood ML, Gray JG, Russell PS. Studies on heterologous antilymphocyte serum in mice. II. Effect on the immune response. *J of Immunology* 1966 ; 96 : 229.

図5 New England Deaconess Hospital と Prof. Monaco の業績

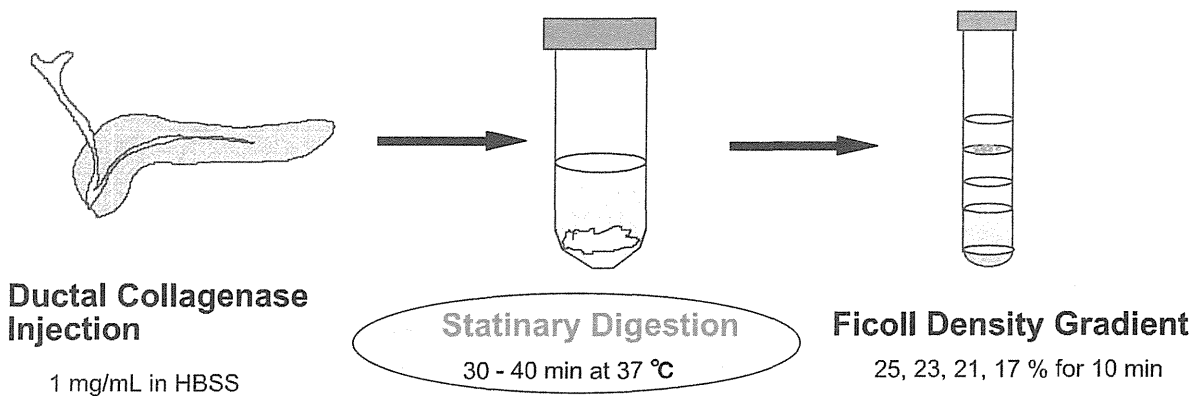


図6 An improved method for isolation of mouse pancreatic islets (Gotoh M et al. *Transplantation* 40 : 437-438, 1985⁽¹⁰⁾より)

の実験をやるように、やれなければ、日本へ帰らないさい」といった厳しいものであったように、慣れない英語を聞いて、自分では受け取っていた。

筆者自身は、膵臓移植はこれまで数多く手がけて自信もあったが、膵臓移植は未知の世界であった。Monaco 教授は、膵臓分離の開発者である Paul Lacy 教授のラボにいたテクニシャンを雇用し、研究の後押しをしてくださったが、この目でみた手法は専門家の手をしてでも再現性に乏しいもので、当時汎用されていた振動消化法の分離効率は惨憺たるものであった。その後、Horaguchi らの論文⁸⁾や Gray らの発表⁹⁾を参考に、マウスの膵管内コラゲナーゼ注入後に静かに消化をすすめる、いわゆる stationary digestion を併用することで、飛躍的に収率が向上することを明らかにした(図6)¹⁰⁾。

膵島の免疫原性

分離法が確立すると、実験はどんどん進み、さ

まざまな疑問にこたえることができる。当時、Faustman らが抗 I a 抗体の膵島処置でマウスの膵島が長期生着するといった報告¹¹⁾をし、注目を浴びていた。膵島を分離し、リンパ節、膵管、血管片などの夾雑物を除き、hand-pick で膵島(purified islet)のみを拾い上げ、STZ 糖尿病同種マウスの腎皮膜下に移植すると、前述されたような免疫学的な処置をまったく付加せずに、約 30%が 100 日以上、長期生着することが明らかになった(図7)¹²⁾。

一方、この夾雑物を反対側の腎皮膜下に、膵島と同時に移植すると、長期生着するはずの膵島がすべて拒絶されたことから、夾雑物に purified islet を拒絶に導く、免疫原性があることが明らかになった。のちに Faustman と一緒に研究をしていた研究者に聞いたが、彼女は purification の操作にきわめて慎重であったことから、highly-purified islets を用いはじめて得られる実験結果であったのではないかと推測する。おそらく夾雑物を含む