

図7 Immunological characteristics of purified islets

(Gotoh M et al. Transplantation 42 : 387-390, 1986<sup>12)</sup>より)

crude islet では、 著明な生着延長を得るのは難しいのではなかったかと想像する。

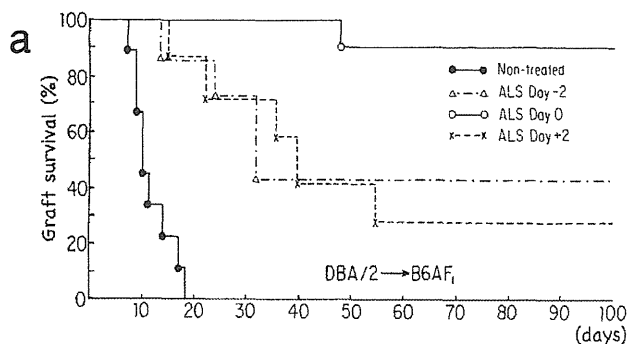
### 免疫不応答を誘導する方法 —抗原量の減少による ignorance の誘導

単純に hand-pick という purification と操作で、免疫原性の高い夾雑物を除去するだけで生着の延長が得られる。さらに免疫原性を低下させるには、ホストに持ち込む膵島数を減らせばよいのではないかという仮説が立てられた。

血糖が正常に回復できる膵島量、すなわち 200 個までに、これまでの 400 個から下げる方法<sup>13)</sup>、さらには、50 個ずつ経時的に追加移植する方法<sup>14)</sup>、あるいは、MHC の異なる 4 系統のマウスから分離した膵島を 50 個ずつ混入し、各マウスから持ち込まれる移植抗原量を減らす方法<sup>15)</sup>が考えられた。これらはすべて有効で、長期生着が高い確率で得られることが明らかになった。

### 免疫不応答を誘導する方法 —抗リンパ球血清の使用による tolerance の誘導

ヒトの膵島はマウスほど pure な preparation はできないであろうし、膵島の免疫原性自体ももっと高いかもしれない。抗原量の減少に伴う ignorance ではなく、積極的に免疫寛容を誘導する方法でないかとの考えから、モナコ教授の研究室で寛容誘導のモデル



b

ALS treatment	n	Graft survival (days)
None	9	7, 9×2, 10×2, 11, 14, 17, 18
to Recipient		
Day -2	7	17, 24, 32×2, >100×3
Day 0	10	48, >100×9
Day +2	7	15, 23, 36, 40, 55, >100×2
to Islet (in vitro)	7	8, 9, 15, 15, 17×2, 20
to Islet & Recipient (Day -2)	6	13×2, 18, 37, >100×2
to Donor	8	14, 15×4, 16, 17, 24
to Donor & Recipient (Day -2)	8	44, >100×7

図8 抗リンパ球血清の生着延長効果

a : ALS の投与タイミングは膵島移植時が最も有効であった。(Gotoh M et al. Transplantation 45:429-433, 1988<sup>16)</sup>より)

b : in vitro と in vivo における ALS の効果の違い。DBA/2 マウスから分離した粗精製膵島を、ストレプトゾトシンを投与して糖尿病にした B6AF<sub>1</sub> マウスの腎皮膜下に移植した。in vitro で ALS と補体を作用させたマウス膵島あるいは ALS を投与したドナーマウスから分離した膵島を前々日に ALS を投与したレシピエントマウス(対照は非投与)に移植した。(Gotoh M et al. Transplant Proc 19 : 576-577, 1987<sup>17)</sup>より)

として利用されていた抗リンパ球血清(ALS)を使った実験を計画した。

まずは、投与のタイミングである。移植 2 日前(day-2)、移植時(day 0)、移植 2 日後(day+2)に ALS を投与する群を作製した。面白いことに day-2 あるいは day+2 投与では 40% 程度であったが、day 0 投与では 90% の生着率が得られた(図 8)<sup>16,17)</sup>。ALS のレシピエントあるいは膵島自体への効果を in vitro で検証するため、day-2 に ALS をレシピエントに投与し、同じく day-2 に in vitro で膵島を ALS と補体で処理して移植したが、際だった生着延長効果は得られなかった。しかし、ドナーマウスに ALS を day-2 に投与し、day-2 に ALS を投与したレシピエントマウスに移植すると、8 例中 7 例で長期生着が得られた。このこと

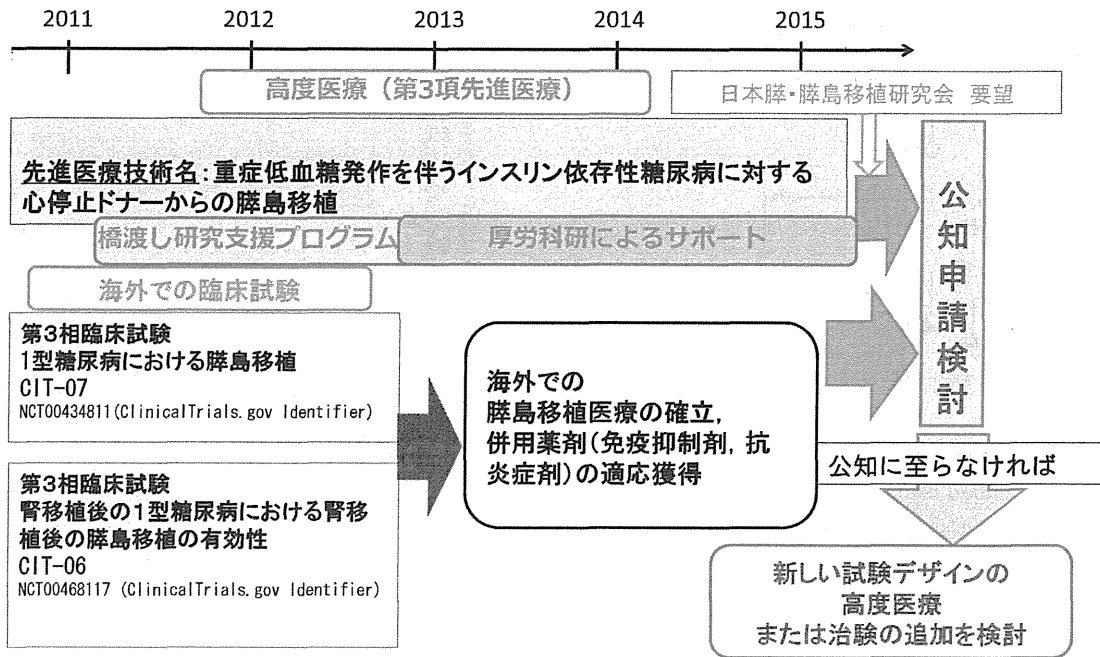


図9 薬事承認申請までのロードマップ

膵島移植回数		初回	2回目	3回目	
		-12h 0 1 2 3 4 10days	-12h 0 1 2 3 4 10days	-12h 0 1 2 3 4 10days	
導入免疫療法	抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン(サイモグロブリン <sup>®</sup> )	↑↑↑↑↑ 全投与量 6.0 mg/kg			
	バシリキシマブ(抗 CD25 モノクローナル抗体: シムレクト <sup>®</sup> )		↑ ↑	↑ ↑	
	エタネルセプト(可溶性 TNF-α レセプター製剤: エンブレル <sup>®</sup> )	↑ ↑ ↑ ↑	↑ ↑ ↑ ↑	↑ ↑ ↑ ↑	
維持免疫療法	カルシニューリン阻害剤 (3種いずれか)	タクロリムス (プログラフ <sup>®</sup> )	トラフ血中濃度: 3~6 ng/mL		
		シクロスポリン (ネオオラル <sup>®</sup> )	トラフ血中濃度: 150~200 ng/mL		
		タクロリムス水和物徐放性カプセル(グラセプター <sup>®</sup> )	トラフ血中濃度: 3~6 ng/mL		
	核酸代謝阻害剤	ミコフェノール酸モフェチル(セルセプト <sup>®</sup> )	内服量: 500~1,500 mg/日		

図10 膵島移植臨床試験の免疫抑制プロトコール

導入療法として、抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン(初回移植のみ)とエタネルセプトを採用。維持療法はカルシニューリン阻害剤とミコフェノール酸モフェチルで行う(本邦では適応外使用)。

は、ALS のレシピエントのみならず移植片に対する *in vivo* 効果を示唆するものであると考えられた。この仮説は、同様のプロトコールを用いた同種小腸移植の系<sup>18)</sup>でも確認されている。

これまで免疫不応答を誘導する二つの方法を示したが、生着の機構は異なる。前者は *ignorance*、後者は *partial tolerance* と考えられる。一次移植片摘出後に、初回ドナーと同じ系からの同種膵島の再移植は、前者の系では拒絶されるが、ALS を使

用したプロトコールでは生着する。また、*naïve* なレシピエントに免疫不応答を誘導できる、移入可能な脾細胞が存在することも明らかとなった。いわゆる *infectious tolerance* に類似した病態が成立しているものと思われる。

### 臨床膵島移植

さて、米国より帰国直後、当時教授であった森

武貞先生より、いつ膵島移植の臨床をはじめめるのか、と折に触れ、叱咤激励されたのを思い出す。

わが国では、2004年に京都大学で1例目の膵島移植が行われ、07年までに全国で18例が実施された。その成績は世界の多施設共同試験と肩を並べるものであった<sup>19)</sup>。しかし、同年3月、膵島分離で汎用されていたLiberaseがウシの脳の抽出物を使用し製造されていることが明らかとなり、BSE(牛海綿状脳症)の発症を危惧し、その酵素を用いた膵島分離・移植は中断された<sup>20)</sup>。新しいコラゲナーゼ、治験レベルの研究体制、長期生着が可能となるプロトコルの三つの改善点が臨床膵島移植再開に要求された。また、脳死ドナーからの対応も課題となった。最近、これらの課題がすべて解決され、再開の糸口が得られるようになった(図9)。

筆者の一番の驚きと感激は、新しいプロトコルでは、マウス実験で明らかにしたALSと類似した効果を持つであろう、抗胸腺細胞に対する抗体が用いられることである(図10)。Bリンパ球に対する抗体を臨床例で併用したほうがよいかどうかは今後の課題と考えられる。

自分に与えられた多くの課題や、多くの方々の励ましと協力があって、今日、臨床膵島移植の再開にこぎ着けられたと思っています。ご指導いただいた先生方、一緒に歩んだ研究者の方々や多くの仲間に深謝し、本稿を終わりたいと思います。ありがとうございました。

## 文 献

- 1) Gotoh M, Okamura J, Monden M, Shima K. Glucagon secretory responses to insulin-induced hypoglycemia and arginine in streptozotocin-induced diabetic dogs. *Endocrinologia Japonica* 30(4): 443-450, 1983
- 2) Gersell DJ, Gingerich RL, Greider MH. Regional distribution and concentration of pancreatic polypeptide in the human and canine pancreas. *Diabetes* 28(1): 11-15, 1979
- 3) Gotoh M, Monden M, Okamura J, Mori T, Shima K. Correlation of regional insulin and glucagon content in canine pancreas and a possible interaction of A and B cells. *Endocrinologia Japonica* 34(6): 843-847, 1987
- 4) Gotoh M, Okamura J, Monden M et al. Comparison of A and B cell secretory responses in partially pancreatectomized pancreas and segmentally autotransplanted pancreas. *Horm Metab Res* 12(suppl): 128-130, 1982
- 5) Gotoh M, Okamura J, Monden M et al. Different

- susceptibility of A and B cells to rejection in canine pancreas allografts. *Horm Metab Res* 12(suppl): 39-42, 1982
- 6) Gotoh M, Monden M, Motoki Y et al. Early detection of rejection in the allografted pancreas. *Transplant Proc* 16(3): 781-782, 1984
- 7) Prieto M, Sutherland DE, Fernandez-Cruz L, Heil J, Najarian JS. Experimental and clinical experience with urine amylase monitoring for early diagnosis of rejection in pancreas transplantation. *Transplantation* 43(1): 73-79, 1987
- 8) Horaguchi A, Merrell RC. Preparation of viable islet cells from dogs by a new method. *Diabetes* 30(5): 455-458, 1981
- 9) Gray DW, McShane P, Grant A, Morris PI. A method for isolation of islets of Langerhans from the human pancreas. *Diabetes* 33(11): 1055-1061, 1984
- 10) Gotoh M, Maki T, Kiyozumi T, Satomi S, Monaco AP. An improved method for isolation of mouse pancreatic islets. *Transplantation* 40(4): 437-438, 1985
- 11) Faustman DL, Steinman RM, Gebel HM et al. Prevention of rejection of murine islet allografts by pretreatment with anti-dendritic cell antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 81(12): 3864-3868, 1984
- 12) Gotoh M, Maki T, Satomi S, Porter J, Monaco AP. Immunological characteristics of purified pancreatic islet grafts. *Transplantation* 42(4): 387-390, 1986
- 13) Gotoh M, Maki T, Porter J, Monaco AP. Augmented survival of purified islet xeno- and allografts with reduced numbers. *Transplant Proc* 19(1 Pt 2): 984, 1987
- 14) Kanai T, Porter J, Monaco AP, Maki T. Successful treatment of experimental diabetes by sequential transplantations of multiple-donor pancreatic islet allografts. *Transplantation* 47(1): 3-6, 1989
- 15) Gotoh M, Sato Y, Abe T, Kanazawa Y. New approaches for successful islet transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 7(4): 358-363, 2000
- 16) Gotoh M, Porter J, Monaco AP, Maki T. Induction of antigen-specific unresponsiveness to pancreatic islet allografts by antilymphocyte serum. *Transplantation* 45(2): 429-433, 1988
- 17) Gotoh M, Maki T, Satomi S, Porter J, Monaco AP. Effect of antilymphocyte serum on crude pancreatic islet allograft survival. *Transplant Proc* 19(1 Pt 1): 576-577, 1987
- 18) Shaffer D, Maki T, DeMichele SJ et al. Studies in small bowel transplantation. Prevention of graft-versus-host disease with preservation of allograft function by donor pretreatment with antilymphocyte serum. *Transplantation* 45(2): 262-269, 1988
- 19) Saito T, Gotoh M, Satomi S et al. Islet transplantation using donors after cardiac death: report of the Japan Islet Transplantation Registry. *Transplantation* 90(7): 740-747, 2010
- 20) Saito T, Anazawa T, Gotoh M et al. Actions of the Japanese Pancreas and Islet Transplantation Association regarding transplanted human islets isolated using Liberase HI. *Transplant Proc* 42(10): 4213-4216, 2010

本稿は、2012年11月16,17日に福島市・コラッセふくしまで行われた、第39回日本臓器保存生物医学学会学術集会における会長講演をもとに書き下ろしたものである。

別刷請求先: 後藤満一  
〒960-1295 福島県福島市光が丘1  
福島県立医科大学医学部臓器再生外科学講座  
E-mail: mgotoh@fmu.ac.jp

# 細胞シート技術を用いた 1型糖尿病の治療法の開発

鵜頭 理恵\*<sup>1)</sup>, 大橋 一夫\*<sup>2)</sup>, 後藤 満一\*<sup>3)</sup>, 岡野 光夫\*<sup>4)</sup>

1型糖尿病は、インスリンを分泌する膵β細胞が何らかの原因で破壊されることで発症する。現在、1型糖尿病に対してインスリン療法が行われているが、インスリンの投与のみでは血糖コントロールが困難な重症患者に対して、脳死または心停止ドナーより分離された膵島を経門脈的に肝臓に移植する膵島移植が試みられている。しかし、長期間にわたってインスリン離脱可能な患者は少数であることから、再生医療・組織工学技術を取り入れた新しい移植法の開発が期待されている。

細胞シート工学は、温度応答性培養皿を使用することで、細胞-細胞間および細胞-細胞外マトリックス間の相互作用を保持したまま、培養細胞をシート状組織体として回収を可能とする技術である。回収

された細胞シートは、接着剤やスキャホールドなしで皮下や臓器表面に生着させることができる。われわれは本技術を利用して分離ラット膵島細胞シートを作製し、皮下に新しい機能的膵島組織を作製することを試みた。ラミニン-332をコートした温度応答性培養皿に膵島細胞を播種すると、細胞が培養皿上に接着・伸展し培養2日後にコンフルエントとなり、膵島細胞シートとして回収可能であった。また、糖尿病マウス皮下に、回収した膵島シートを貼布移植したところ、機能的な膵島組織を構築し、血糖値の正常化を獲得した。膵島細胞シートを用いた膵島移植法は、異所性膵島組織を作製するための有用な手法となりうると考えられた。

Rie UTOH, Kazuo OHASHI, Mitsukazu GOTOH, Teruo OKANO: The development of new treatments for type 1 diabetes mellitus using cell sheet technology. *Diabetes Journal*, 41: 95~101, 2013

## はじめに

1型糖尿病は、自己免疫などにより膵β細胞が破壊され、インスリン分泌が枯渇する病態である。現在、インスリン治療によっても血糖コントロールが困難な重症1型糖尿病の治療法として、脳死または心停止ドナー(国内ではほとんどが心停止ドナー)の膵臓からインスリンを分泌する膵島のみを分離し、門脈血流内に注入し肝臓内門脈末梢にて生着させる「膵島移植」が行われている。カナダ・アルバータ大のグループによって報告された膵島移植法は、「エドモントンプロトコール」と呼ばれ、免疫抑制剤としてシロリムスを中心にダクリズマブと低用量のタクロリムスを組み合わせて使用し、期間をあけて複数回の移植を行うことに

より数年にわたってインスリン離脱を可能にする、画期的な治療法として注目を浴びた<sup>1)</sup>。現在では、その移植技術が世界各国に広がり、改良が重ねられ一定の効果を上げている。しかし、長期間にわたってインスリン離脱可能な患者は少数であり、次世代再生医療として、生体内に機能的な膵島組織を作製する新たなアプローチ法の確立が期待されている。われわれは、スキャホールドを使用しないユニークな単層の細胞組織体である細胞シートを作製する技術を発展させ、再生医療に応用してきた<sup>2,3)</sup>。次の展開として機能性臓器・組織についても応用拡大を目指している。膵島組織作製を目的とした血管外部位には、皮下、腎被膜下、大網、筋膜下などの部位が検討されているが、その中で皮下は、アクセスが容易であること、低侵襲下で

\*<sup>1)</sup>東京女子医科大学先端生命医学研究所, \*<sup>2)</sup>同・特任准教授(現:奈良県立医科大学消化器・総合外科・非常勤講師), \*<sup>3)</sup>同・教授・所長  
●〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1, \*<sup>3)</sup>福島県立医科大学臓器再生外科・教授

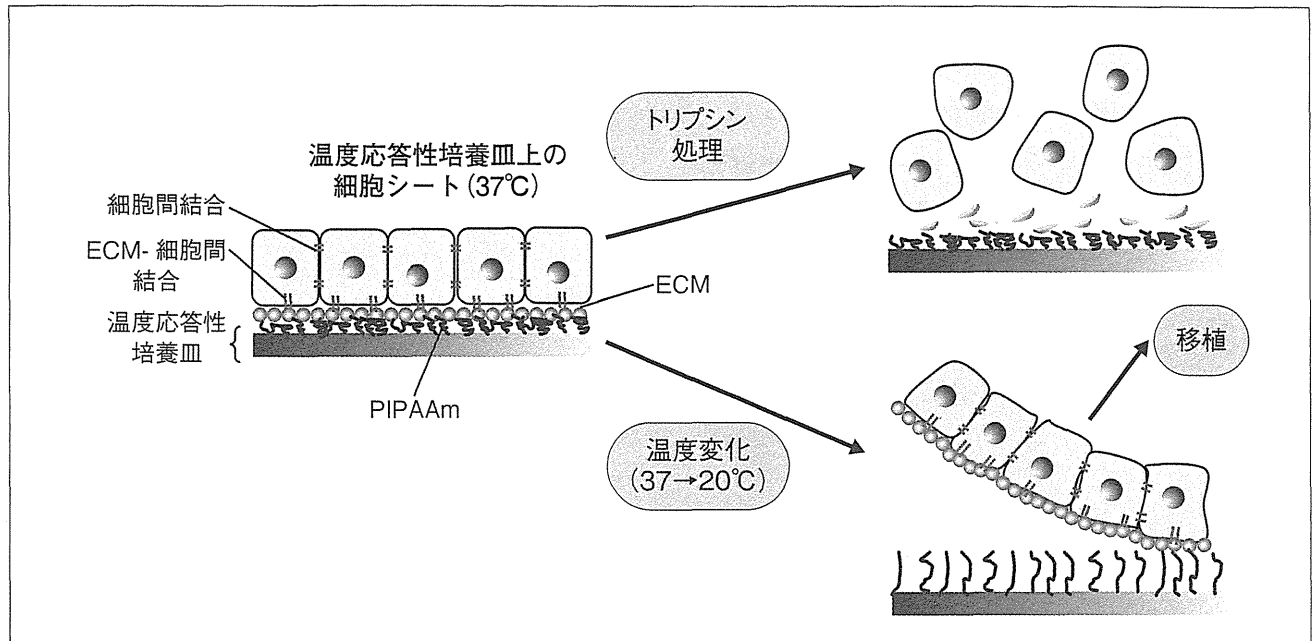


図1 温度応答性培養皿を使用した細胞シート作製の概略図

手技が行えること、繰り返しの手技が可能であること、また、臨床的には生検などの組織評価が簡便に行い得る特徴を持つ。本稿では、膵島細胞シート作製過程ならびに皮下移植にて作製できる膵島組織の機能と構造を紹介し、新規糖尿病治療としての膵島組織作製の今後の展望について概説する。

## 1. マウス皮下における機能的膵島組織の再構築

### 1. 細胞シート工学

細胞シート工学は、温度の変化によって親水性/疎水性に変化する温度応答性ポリマー(PIPAAm)が固定化された培養皿(温度応答性培養皿)を使用し、「細胞シート」を作製する技術である<sup>4-6)</sup>(図1)。ラミニン、コラーゲン、フィブロネクチンなどの細胞外マトリックス(ECM)は、細胞接着の足場として、組織の構築に重要な役割を果たしている。培養皿から細胞を回収する従来法では、トリプシンなどのタンパク質分解酵素を使用するために細胞表面に存在するこれらのECMや接着タンパク質などは消化されてしまい、ほとんど残存しない。しかし、温度応答性培養皿から温度変化のみによって回収される細胞シートは、細胞表面にECMが残存するために、それらが糊の役割を果たし、*in vitro*における生体内の組織構成を模倣した三次元構造の再構築や、スキヤホールドや接着剤なしで皮下や臓器表面への細胞シートの生着を可能に

する。これまでに、「角膜上皮幹細胞疲弊症の口腔粘膜細胞シートによる治療」<sup>7)</sup>、「筋芽細胞シートによる心筋再生治療」<sup>8)</sup>、「自己口腔粘膜細胞シートによる食道癌患者の上皮再生治療」<sup>9)</sup>、「自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建治療」<sup>10)</sup>、などの臨床応用が展開されている。

現在のところ、基礎研究として膵島などの内分泌器官や、腎臓や肝臓などの機能性臓器・組織についても研究開発が精力的に行われ、今後の再生医療推進において大きな軸となっている。

### 2. 膵島細胞シートの作製と回収

細胞シート工学を基盤として皮下に膵島組織を作製することを目指して、最初にラット膵島細胞シートの作製条件を検討した<sup>11)</sup>。温度応答性培養皿にトリプシン/EDTAにより単離したラット膵島細胞を播種すると、単離膵島細胞は培養皿に接着・伸展せず集合体を形成したため、単層の膵島細胞シートを形成させることは困難であった。そこで、温度応答性培養皿の表面を種々のECM(I型コラーゲン、ラミニン-111、もしくは-332)によってコーティングし、単離膵島細胞の培養皿表面への接着率の比較を行った。その結果、ラミニン-332(LN-332、別名：ラミニン-5)をコートした場合においてのみ、膵島細胞が培養皿表面に接着・伸展し、培養2日後にコンフルエントとなった(図2)。膵島細胞シートのインスリン、グルカゴン陽

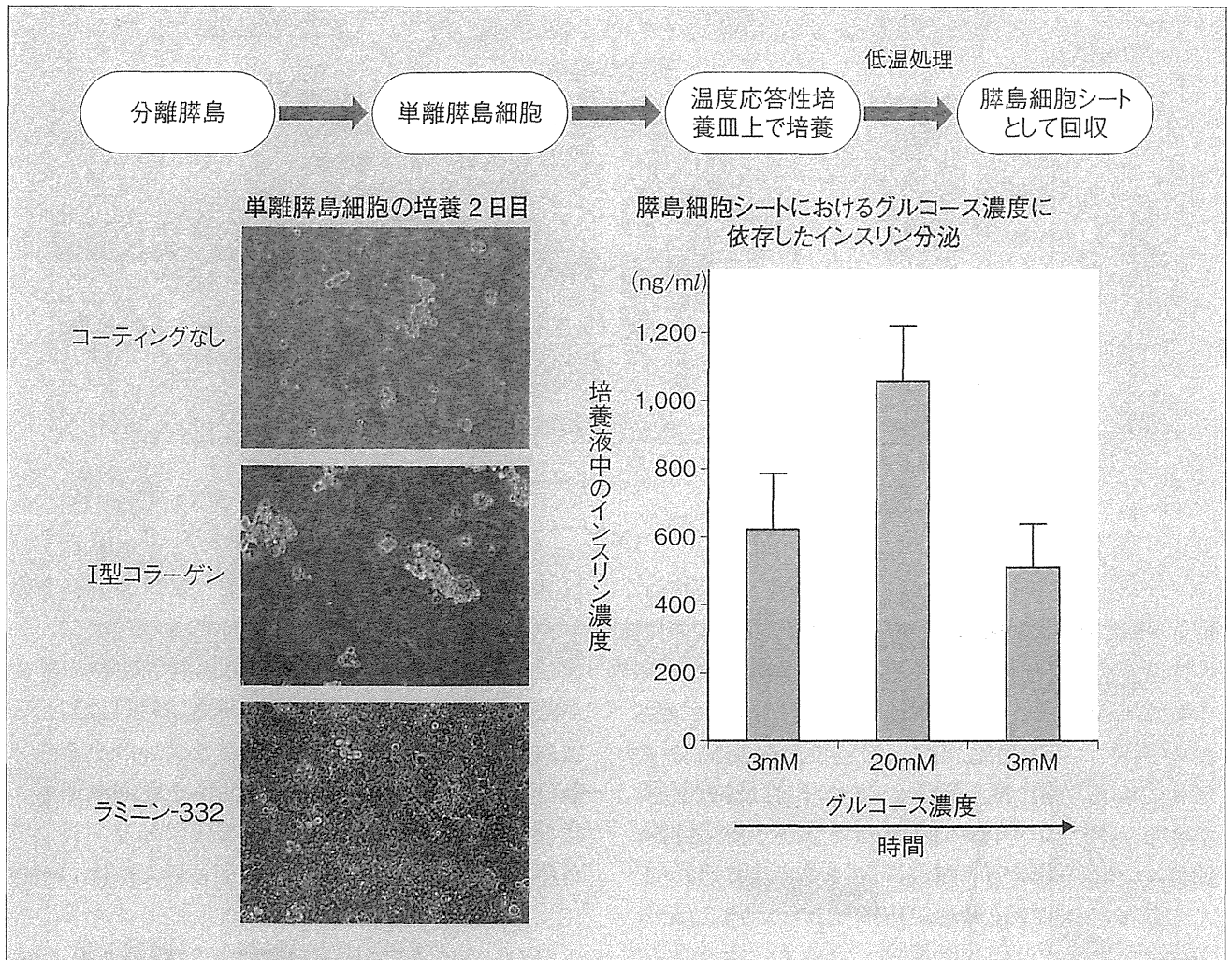


図2 温度応答性培養皿を用いた膵島細胞シート作製条件の検討

(文献11より引用改変)

性の $\alpha$ 細胞、 $\beta$ 細胞の存在比は、それぞれ $19 \pm 3.6\%$ 、 $76.8 \pm 2.9\%$ であり、生体内の構成比( $\alpha$ 細胞:  $15 \sim 20\%$ 、 $\beta$ 細胞:  $60 \sim 80\%$ )とほぼ同等であった。また、培地中のグルコース濃度を $3.3\text{mM}$ から $20\text{mM}$ に変化させたところ、グルコース濃度に応じたインスリンの分泌を認めたことから、LN-332は、単離膵島細胞の温度応答性培養皿上への接着と伸展を促進し、*in vitro*において単層培養状態の膵島細胞の機能を維持し、グルコース濃度に応じたインスリン分泌を可能にすることが明らかとなった。LN-332は $\alpha 3$ 、 $\beta 3$ 、 $\gamma 2$ 鎖からなる糖タンパク質で、さまざまな上皮組織や膵島組織にもその発現が認められ、 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 4$ インテグリンなどを介して細胞の接着と細胞移動の制御に関与することが知られている。なお膵島組織では、 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ インテグリンの発現がみられる。

続いて、低温処理により温度応答性培養皿からの膵島細胞シートの回収を試みた。しかし、市販の温度応答性培養皿であるUpCell(セルシード社製)上で培養した膵島細胞シートは、培養皿表面への接着が強固であり、長時間の低温処理を行っても細胞シートとして剥離し回収することは困難であった。そこで、PIPAAmの固定化量を通常より3~3.5倍増加させた高剥離タイプの温度応答性培養皿を作製して膵島細胞シートの剥離を試みたところ、低温処理後、支持膜を用いることで膵島細胞シートとして回収することが可能となった。

### 3. 膵島細胞シートの1型糖尿病モデルマウスへの移植

膵島細胞シート移植による生体内での組織作製とその治療効果を把握することを目的に、ラット膵島細胞シートを免疫不全糖尿病マウスの皮下に移植し、皮下に新たな膵島組織の作製を試みた<sup>12)</sup>。

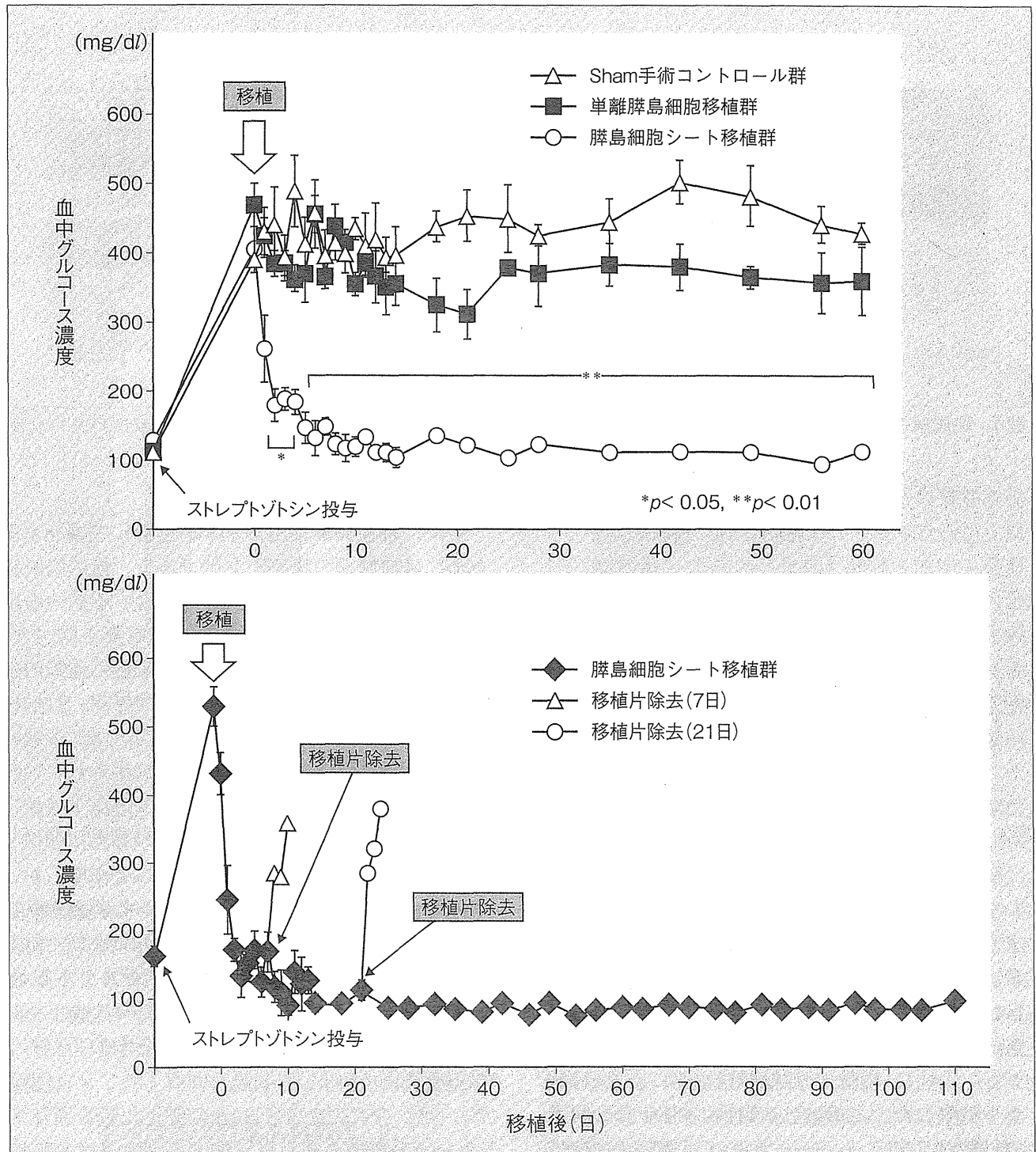


図3 SCIDマウスにおけるラット膵島細胞シートの貼布移植後の血糖値の推移

(文献12より引用改変)

レシピエントとして、機能的なTおよびB細胞を欠損する重度複合免疫不全マウス(SCIDマウス)を使用し、ストレプトゾトシンを投与することにより1型糖尿病を誘発させた。ストレプトゾトシンは膵β細胞に対して毒性のあるグルコース類縁体であり、グルコース輸送担体であるGLUT2を介して膵β細胞に取り込まれ、β細胞の選択的破壊

を引き起こす薬剤である。

レシピエントマウスにおいて糖尿病病態(血糖値350mg/dl以上)が誘導されたことを確認後、皮下に膵島細胞シートを移植し、経時的にマウスの血糖値と体重の測定を行い、膵島細胞シート移植の治療効果を検証した(図3)。その結果、移植後1週間以内に全例で血糖値の正常化を認めた。また、

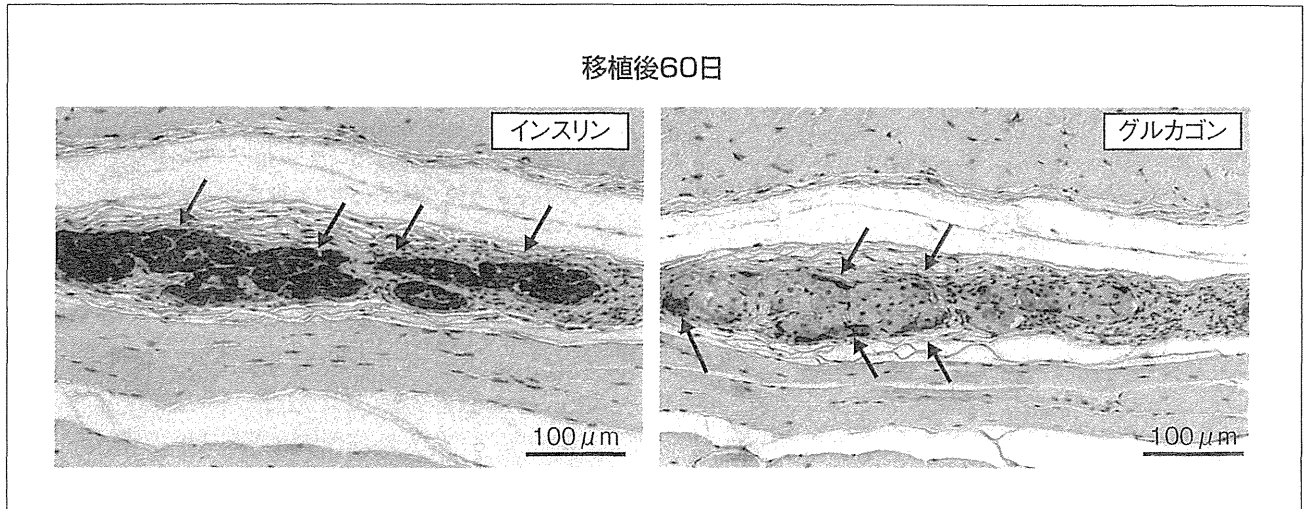


図4 糖尿病マウス皮下での膵島組織の再構築

(文献12より引用改変)

長期観察の結果、血糖正常化の治療効果は100日以上にわたり安定して維持され、持続的なマウス体重の増加も確認された。さらに、移植後7日あるいは21日目に血糖が正常化したマウスに移植片除去術を行ったところ、血糖値の急激な増加による糖尿病病態への再燃を認めた。この結果から、糖尿病マウスの血糖正常化は皮下に作製した膵島組織によってコントロールされていることが明らかとなった。

#### 4. 膵島細胞シート移植により作製する皮下膵島組織像

前述のとおり、膵島細胞シート皮下移植が明らかな治療効果を発揮したことから、われわれは、皮下に作製した膵島組織の組織検索をインスリンおよびグルカゴン染色を中心に行った。移植後4日および60日目の皮下組織を検討したところ、両条件ともに、インスリン陽性( $\beta$ 細胞)およびグルカゴン陽性( $\alpha$ 細胞)の移植膵島細胞による組織構築を観察した。 $\alpha$ 細胞と $\beta$ 細胞の組織内配列を詳細に検討してみると、移植後4日目においてすでに $\beta$ 細胞が組織内側に、 $\alpha$ 細胞が組織外郭に局在する傾向を示し、60日目においてはその独特な配置がさらに顕著となっていた。これら $\alpha$ および $\beta$ 細胞の配列は、生体膵臓内の膵島での配置と同じである。また、移植前の膵島細胞シートの回収段階では、 $\alpha$ 細胞と $\beta$ 細胞はランダムに局在することを確認していることから、膵島細胞シートによる組織作製は、細胞の生理的な配列を促し、機能的な膵島組織の再構築が行われたことが示唆され

た(図4)<sup>12)</sup>。

また、移植膵島細胞シートが生着して機能するためには血管網の構築が必須である。血管内皮細胞のマーカであるPECAM-1に対する抗体を用いて免疫染色を行い、血管新生の有無を調べた。移植後4日目において、PECAM-1陽性の血管内皮細胞は皮下移植膵島細胞シートの周縁部、移植後60日になると作製膵島組織内や周囲近傍に多数存在し、新規膵島組織内に血管網が構築されていた。これらのことから、膵島細胞シートの皮下移植により血管新生が誘導され、生体内の膵島に類似した機能的な膵島組織が形成されることが明らかとなった。数百~千個の細胞集塊である膵島を直接移植する場合、細胞塊中心部の壊死およびそれらに関連する膵島障害が発生する可能性があるが、膵島細胞シートは単層状の細胞組織体であるため、乏血管性の皮下に生着させる上できわめて有利であると考えている。

## II. 単離膵島細胞の凍結保存

脳死・心停止ドナーから分離した膵臓は、分離直後に凍結し、必要な時に解凍して細胞シートを作製した上で、移植に利用できることが理想的である。University of Wisconsin solution (UW液)は、しばしば摘出後の臓器・組織の冷蔵保存に使用されており、その組成物は、①低温保存が引き起こす細胞膨張を抑制して浸透圧を一定にする、②組織の浮腫を予防する、③酸素フリーラジカルの発生を予防する、ように調製されている。また、



UW液を含む凍結保存液は、肝細胞の凍結などにも使用されており、通常の凍結保存液(FBS含有培地+12% DMSOなど)と比較して解凍後の生存率が高いとの報告がある<sup>13)</sup>。

そこでわれわれは、UW液に10% DMSOを添加した凍結保存液に単離膵島細胞を懸濁して、4週間液体窒素の中で保存した<sup>14)</sup>。凍結解凍後の単離膵島細胞の生存率は86±5%であり、高い生存率を保っていた。LN-332をコートした温度応答性培養皿に凍結融解した膵島細胞を播種すると、培養2日目にはコンフルエントとなり、新鮮単離膵島細胞と同様に細胞シートとして回収することが可能であった。また、凍結融解した細胞を用いて作製した膵島細胞シートはグルコース濃度応答性のインスリン分泌機能を保持しており、培養液中のグルコース濃度に応じたインスリンの分泌を確認した。

通常、数百～千個の細胞集塊である膵島の凍結解凍を行うと、生存率および機能が新鮮膵島と比較して著明に低下することが知られている。今回、膵島をトリプシン・EDTAを用いて単離した膵島細胞の凍結保存を行ったところ、生存率の低下は軽微であり、機能的な細胞シートを作製することが可能であった。これらのことから、単離膵島細胞を凍結し加工して移植する方法も、将来的には1型糖尿病を治療するための有効な手段の1つとなりうると考えられた。

### III. 臨床応用に向けて

再生医療研究において臨床応用を行うためには、まずヒト組織・細胞などを利用した小動物実験、大動物実験などの前臨床研究を行い、効果が十分に確かめられた後、臨床研究に移行する必要がある。膵島細胞シートを用いた臨床研究を行う前に、動物実験においてヒト由来膵島細胞シートの作製条件の検討とその治療効果を十分に確かめなければならない。しかしながら現在の日本のガイドラインでは、臓器・細胞移植に使用するために脳死・心停止ドナーから採取されたヒト組織・細胞は、たとえ移植に使用しない余剰分があったとしても研究利用は認められていない。膵島の場合にも、新鮮膵島移植の基準を満たされずに移植に使用されなかった膵島は、凍結保存されているものの、

基礎研究には利用できない状況である。そのためわれわれは、膵島細胞シートの臨床展開を目指すために、カナダ・アルバータ大学より、膵島移植に用いられなかった余剰ヒト膵島の提供を受け、ヒト膵島細胞の細胞シート作製技術の開発ならびに、マウスを用いた前臨床実験を行っている。ドナー不足は慢性的であり、移植医療のみならず再生医療研究の大きな妨げになっている。

現在、ドナー不足を改善するためにES・iPS細胞、あるいは組織幹細胞から膵島細胞へ分化させる研究が盛んに行われている。しかし現段階では、幹細胞から分化させた細胞は、膵島細胞の機能のごく一部が再現できているに過ぎず、再生医療に応用するためには、技術の発展を待たなければならない。今後、日本発の再生医療研究を進展させるためには、幹細胞研究およびティッシュエンジニアリング技術の両方の発展が必須である。われわれは、幹細胞研究の発展とともに、細胞をいかに配列させ、機能的な組織・臓器を創るのかという研究に重点を置きつつ開発を進める予定である。

### おわりに

動物研究において膵島細胞シートは、乏血管性部位である皮下組織においても、単純な貼布移植で効率よく生着し機能的な膵島組織が作製され、糖尿病病態を完治させることが明らかとなった。本手法はインスリン分泌細胞をベースにした新たな移植法として、糖尿病の治療において有用な手法となりうると考えられる。将来的にES・iPS細胞などの幹細胞から膵島細胞に分化させる技術と組み合わせることで、1型糖尿病を完全に克服する根治療法の実現につながると期待される。

### 〔文献〕

- 1) Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al : Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med*, **343** : 230-238, 2000
- 2) Yang J, Yamato M, Nishida K, et al : Cell delivery in regenerative medicine: the cell sheet engineering approach. *J Control Release*, **116** : 193-203, 2006
- 3) Yang J, Yamato M, Sekine H, et al : Tissue engineering using laminar cellular assemblies. *Adv Mater*, **21** : 3404-3409, 2009
- 4) Okano T, Yamada N, Okuhara M, et al : Mechanism of cell detachment from temperature-modulated, hydrophilic-hydrophobic polymer surfaces. *Biomaterials*, **16** : 297-303,

- 1995
- 5) Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, et al : Cell sheet engineering for myocardial tissue reconstruction. *Biomaterials*, **24** : 2309-2316, 2003
  - 6) Kikuchi A, Okano T : Nanostructured designs of biomedical materials: applications of cell sheet engineering to functional regenerative tissues and organs. *J Control Release*, **101** : 69-84, 2005
  - 7) Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et al : Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med*, **351** : 1187-1196, 2004
  - 8) 宮川 繁, 澤 芳樹 : 心不全に対する細胞シート移植の現状と展望. *人工臓器*, **41** : 215-218, 2012
  - 9) Ohki T, Yamato M, Ota M, et al : Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology*, **143** : 582-588, 2012
  - 10) Yoshida T, Washio K, Iwata T, et al : Current status and future development of cell transplantation therapy for periodontal tissue regeneration. *Int J Dent*, **2012** : 307024, Epub 2012
  - 11) Shimizu H, Ohashi K, Utoh R, et al : Bioengineering of a functional sheet of islet cells for the treatment of diabetes mellitus. *Biomaterials*, **30** : 5943-5949, 2009
  - 12) Saito T, Ohashi K, Utoh R, et al : Reversal of diabetes by the creation of neo-islet tissues into a subcutaneous site using islet cell sheets. *Transplantation*, **92** : 1231-1236, 2011
  - 13) Arikura J, Kobayashi N, Okitsu T, et al : UW solution: a promising tool for cryopreservation of primarily isolated rat hepatocytes. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, **9** : 742-749, 2002
  - 14) Ohashi K, Mukobata S, Utoh R, et al : Production of islet cell sheets using cryopreserved islet cells. *Transplant Proc*, **43** : 3188-3191, 2011

# アカデミアのTR拠点が創出する 膵島移植確立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

Strategic approach for establishment of the pancreatic islet transplantation  
by academic TR center

(ii)Development of clinical islet transplantation with new immunosuppressive protocol



後藤 満一<sup>1)\*1</sup> 穴澤 貴行<sup>2)\*2</sup>

Mitsukazu Gotoh Takayuki Anazawa

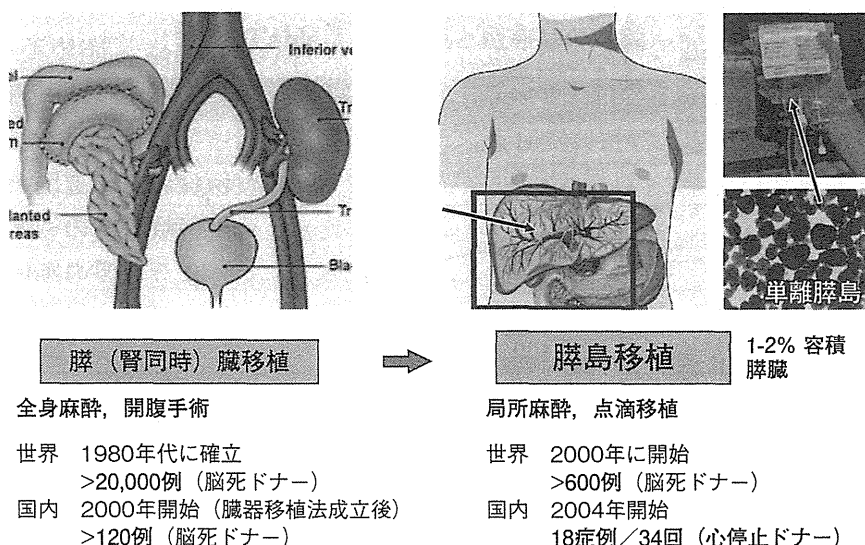
- 1) 福島県立医科大学臓器再生外科 主任教授  
Professor and Chairman, Department of Regenerative-Surgery, Fukushima Medical University
- 2) 福島県立医科大学臓器再生外科 助教  
Assistant Professor, Department of Regenerative Surgery, Fukushima Medical University

## 1. 開発技術の概要と対象疾患

インスリン依存型糖尿病いわゆる重症の1型糖尿病に対しての移植医療は膵臓移植が主ですが、全身麻酔での開腹手術でかなり大きな侵襲です。

これに対し膵島移植は局所麻酔で点滴の要領で組織移植をする、非常に低侵襲な治療として期待されています (Fig. 1)。これまで国内では臨床研究として34回の膵島移植を18人の患者に行っています。海外と違うのは、日本の事情で主に心停止ドナーを膵島移植のドナーの対象としてきたとい

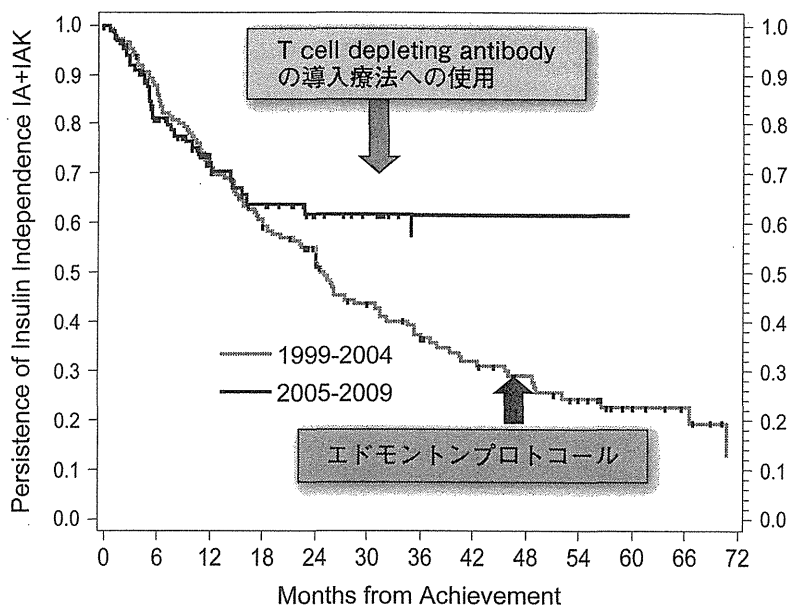
Fig. 1 インスリン依存型糖尿病に対する低侵襲な移植医療の確立



\*1 研究代表者.

\*2 発表者 (写真).

Fig. 2 欧米の膵島移植後インスリン離脱率の改善  
(by Era of First Infusion)



<http://www.citregistry.com/>

う特徴があります。

膵島移植のこれまでの問題として、海外での臨床試験でも膵島移植後の長期の成績が期待したほどではなく、我々も海外の成績と似たような形で5年経つとかなりの移植した膵島が拒絶あるいは細胞死に陥り、生着率が悪いという問題を抱えていました。しかし2005年以降の免疫抑制法の改良により、5年のインスリン離脱率がほぼ50%を超える形で欧米の成績が伸びてきています (Fig. 2)。これに最も大きく寄与しているのは、T cell depleting antibodyを免疫抑制の導入療法に使用することであると考えられています。

## 2. プロトコール概要

これを受けて我々も膵島移植で同様の導入免疫療法を導入することにしました。ATG (anti-thymocyte globulin) を初回の移植の導入療法に使い、TNF- $\alpha$  レセプター製剤も膵島移植の生着において重要な役割を果たすとの知見があり、こちらも今回の膵島移植の免疫療法に組み込んでいます (Fig. 3)。これらの薬剤全て適応外使用なので、

高度医療評価制度のもとで行う形を進めてきました。

膵島移植の臨床試験のプロトコールの概要は (Fig. 4)、第 I / II 相臨床試験で、対象疾患は1型の糖尿病で重症低血糖発作を有する方です。主要エンドポイントは血糖値の安定化とともに重症低血糖発作が消失した患者の割合、目標症例数は20例です。なかなかドナーの発生がなく、当初4年3ヶ月ということではじめていましたが、昨年 (2012年) 末に2年間の延長を申請し6年3ヶ月の研究期間をもって臨床試験を完遂したいと思っています。高度医療から先進医療Bへと変更になりましたが、先進医療制度のもとで、薬事法上の申請に繋がり得るような質の高いデータを収集する計画です。

## 3. 開発ロードマップ

開発のロードマップですが (Fig. 5)、今紹介した臨床試験を動かし、また海外でも同様の臨床試験が動いていますので、我々の試験のデータと海外のデータを合わせて、これ以上大きな臨床試験

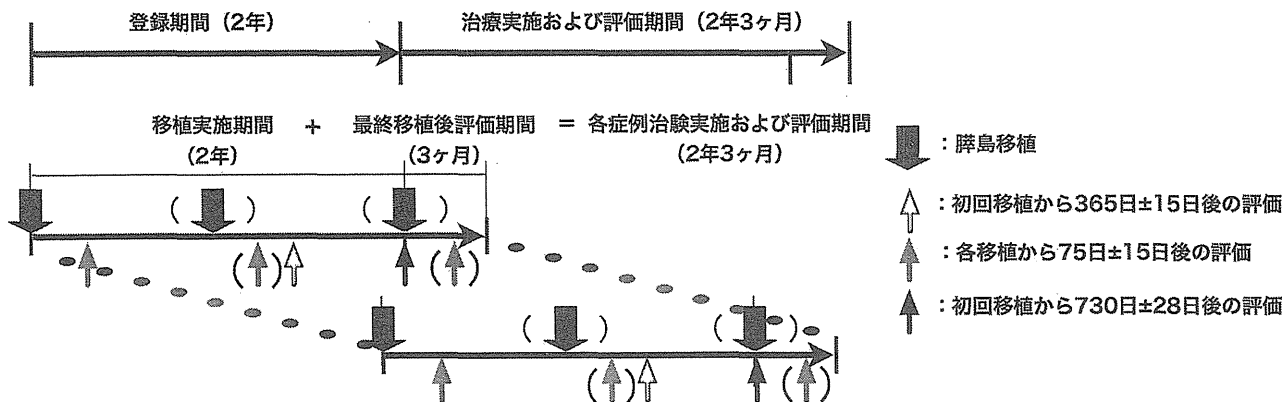
Fig. 3 膵島移植新規免疫抑制療法

膵島移植回数		初回	2回目	3回目
		-12h 0 1 2 3 4 10days	-12h 0 1 2 3 4 10days	-12h 0 1 2 3 4 10days
導入免疫療法	抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン (サイモグロブリン®)	↑↑↑↑ (全投与量6.0 mg/kg)		
	バンリキシマブ (抗CD25モノクローナル抗体: シムレクト®)		↑ ↑	↑ ↑
	エタネルセプト (可溶性TNF-αレセプター製剤: エンブレル®)	↑ ↑ ↑ ↑	↑ ↑ ↑ ↑	↑ ↑ ↑ ↑
維持免疫療法 (3種いずれか)	タクロリムス (プログラフ®)	トラフ血中濃度: 3~6 ng/ml		
	サイクロスポリン (ネオール®)	トラフ血中濃度: 150~200 ng/ml		
	タクロリムス水和物徐放性カプセル (グラセプター®)	トラフ血中濃度: 3~6 ng/ml		
	核酸代謝阻害薬	内服量: 500~1,500 mg/日		
	ミコフェノール酸モフェチル (セルセプト®)			

導入療法に **ATG** (初回移植のみ) と *Etanercept* を採用  
維持療法は **CNI** と *MMF* で行う (本邦では適応外使用)

Fig. 4 膵島移植臨床試験プロトコル概要

I. 試験デザイン: 第 I / II 相臨床試験



II. 対象疾患: 重症インスリン依存状態糖尿病

III. 主要エンドポイント

初回移植から1年後にHbA1c値 (Japan Diabetes Society (JDS) 値) が7.0%未満であり、かつ初回移植後90日から移植後365日にかけて重症低血糖発作が消失した患者の割合

IV. 目標症例数: 20例

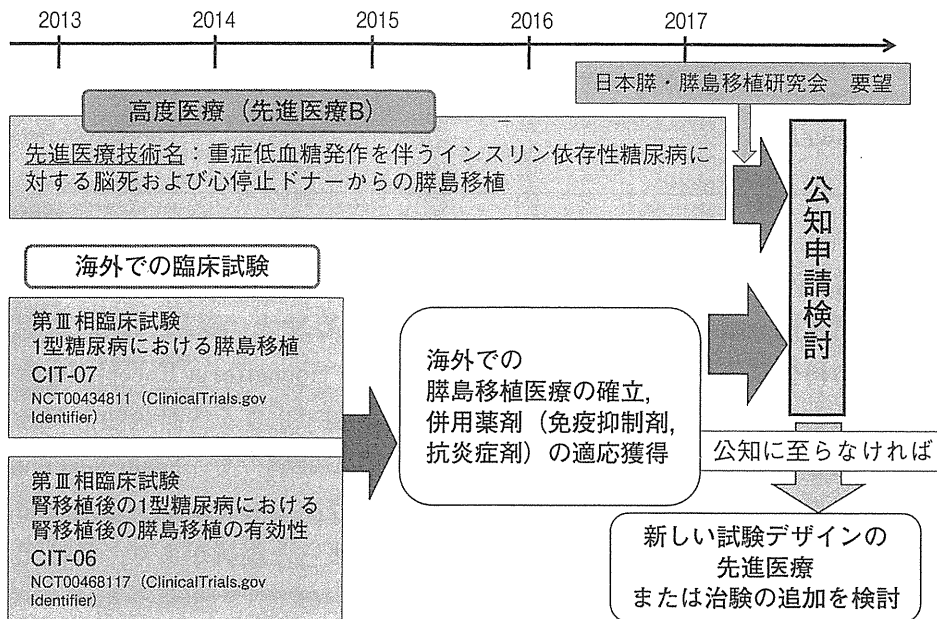
V. 研究期間: 6年3ヶ月間

UMIN 試験 ID : UMIN000003977

(2011年2月より実施中)

➡ 高度医療評価制度のトラックでの実施 薬事法上の申請に繋がり得るデータ収集

Fig. 5 開発スケジュール



はなかなか進めないと思っていますので公知申請を検討しています。

実施体制は、6施設の多施設共同臨床試験で、データセンターは東北大学にあり、プロジェクト管理に公益財団法人先端医療振興財団のサポートをいただいています。現在、臨床試験の登録前検査が終わって移植を待っておられる方は13名、その他にも検査が進んでいます。

ドナーの発生が少ないのは、臓器移植法改正後

に心停止ドナーが少なくなり脳死ドナーが増えたということがあります。また脳死ドナーの中でも膵臓移植に使われない膵臓の臓器が出ていることもあり、当初は心停止ドナーからの膵島移植を進めていましたが、脳死ドナーからも膵島移植が出来るように考えまして、2013年2月に先進医療会議で脳死ドナーからの膵島移植も先進医療の枠組みで行えることになり、昨日（2013年3月1日）告示を受けたところです。

\* \* \*

## 質疑応答

Questions and answers

Q 私は耳鼻科医で気管の再建は非常に問題なのですが、やはり全周再建が一番ニーズがあると思います。高戸毅先生の再生気管軟骨はポリプロピレンを使っておられるということですが、全周再建に耐え得るだけの力を持っているのでしょうか。

高戸 現段階では全周はまだ難しいと思っています。外傷性の前壁の欠損に対してまず第I相の治療を行います。この前の段階に私たちは鼻の軟骨をつくっています。鼻の軟骨に関しては今回の気管軟骨と scaffold 等方法は同じですが、鼻の場合は5 cm×約1 cmほどです。今回は形状が違いますが、少し彎曲がついた板状のものを用いていますが、裏面の全周性に関してはこれをすぐ患者に用いるということはまだ考えていません。

清水 膝島移植も再開にこぎつけられたようで、おめでとうございます。LiberaseのBSE (Bovine Spongiform Encephalopathy: 牛海綿状脳症) 問題で止まる等紆余曲折があったと思いますが、私の経験でも、brain heart infusionが使われていてウシでなおかつ一番危険な部位が使われていて止まった経緯があり、私は元々は分子生物学者だったので、大腸菌をクローンにしてつくったほうが早いのではと言っていました。実現できませんでした。今回ようやくここまで来られてよかったですと思います。最終的な製造は国内のどこかのメーカーが協力していただけるのでしょうか。

渡邊 国内のメーカーと当初から共同研究をさせていただいて、なかなか遅々とはしていますが、順調に進めています。

\* \* \*

報告

# 膵島移植症例登録報告 (2012)

日本膵・膵島移植研究会膵島移植班

## Islet transplantations in Japan —Report from Japanese Islet Transplantation Registry—

The Japanese Pancreas and Islet Transplantation Association

### 【Summary】

The program of islet transplantations in Japan comprised 65 islet isolations mainly from nonheart-beating donors, and 34 transplantations into 18 patients with type 1 diabetes mellitus. Overall graft survival defined as C-peptide level more than or equal to 0.3 ng/ml was 76.5%, 47.1%, and 11.8% at 1, 2, and 5 years, respectively. Three of these recipients became insulin-independent transiently. Clinical islet transplantation has been resumed as a clinical trial using mammalian-free enzyme to assess the new immunosuppression protocol. The primary objective is to verify the effect of the immunosuppressants by confirming the existing islet graft function that can lead to glycemic stability.

**Keywords:** Japanese Pancreas and Islet Transplantation Association, clinical trial, islet transplantation, type 1 diabetes mellitus

### I. はじめに

インスリン依存状態糖尿病に対する低侵襲移植療法である膵島移植は、心停止ドナー膵からの膵島を移植に供する特色を有し実績を重ねてきた。膵島分離用酵素の問題を機にその実施は一時停止したが<sup>1)</sup>、その間、再開実施に向けた体制整備が行われ、現在、免疫抑制プロトコルの臨床効果と安全性の評価のため多施設共同臨床試験が実施されている。これまで実施された膵島移植の長期成績を報告し、進行中の臨床試験の進捗状況を踏まえて今後の展望を述べる。

### II. 対象と方法

2007年から開始された日本移植学会への各臓器の症例登録作業に伴い、日本膵・膵島移植研究会膵島移植班で作成した膵島移植登録に関するフォーマットをもとに集計を行った。2007年4月以降、2012年9月現在まで、新規の膵島移植実施例はなかったが、膵島移植実施体制の現状と2012年9月までの膵島移植レシピエント候補者登録数、および、これまでに実施された膵島移植症例の2011年末までのフォローアップ

データについて報告し、さらに膵島移植臨床試験の進捗状況と今後の展望について報告する。

#### 1. 膵島移植施設認定および実施体制

日本膵・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施設基準を設け、新たに膵島移植実施施設の申請があった場合はこの施設基準をもとに日本膵・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<sup>2)</sup>。2011年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、国立病院機構千葉東病院、京都大学、大阪大学、神戸大学、福岡大学の7施設が認定されている。このうち神戸大学から施設認定取り下げの申請があり、2009年3月以降2012年3月までは、上記の諸施設から神戸大学を除いた6施設による体制であった。さらに、2012年4月より、岡山大学、徳島大学、長崎大学が認定施設となり活動を開始している。膵臓摘出から移植までの時間を短縮するために、施設認定を受けた各施設は日本膵・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



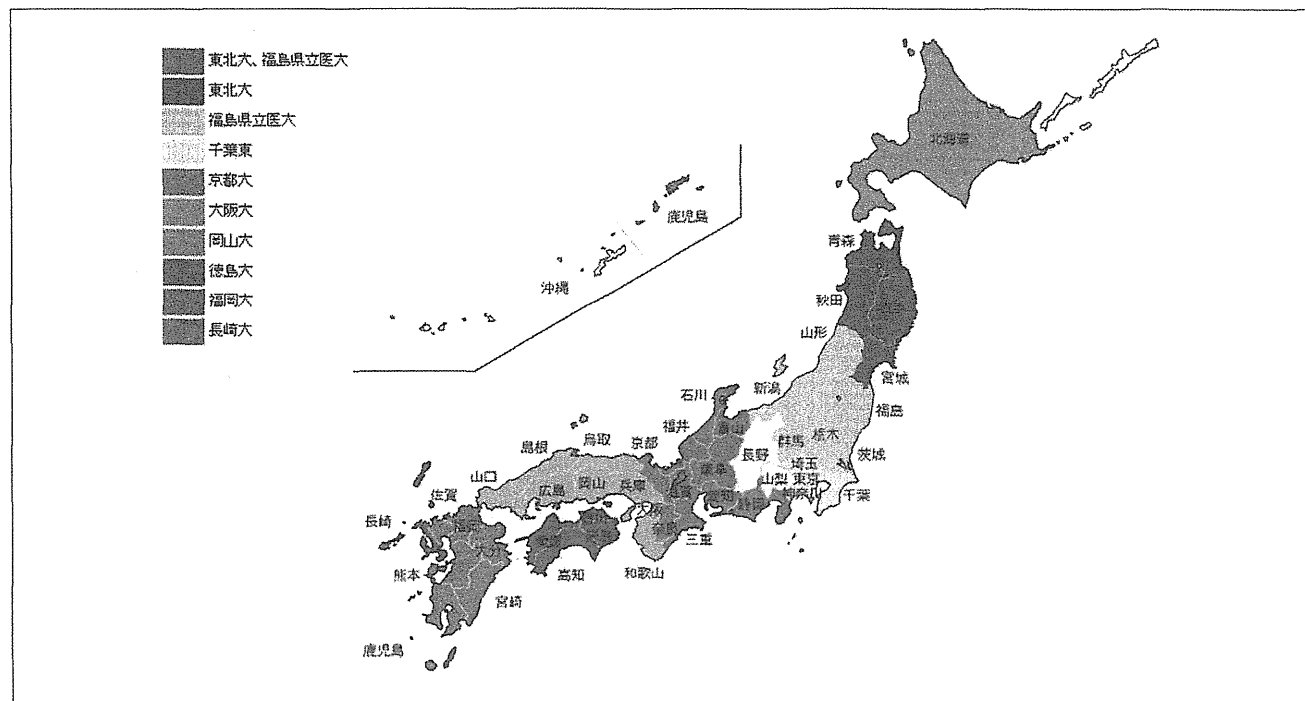


図1 膵島移植実施体制

※北海道は福島医大と東北大が交互に担当。茨城県は北部は福島医大、南部は千葉東、淡路島は徳島大が担当。長野・山梨・沖縄は、2012年9月現在担当施設なし。

体制を形成している(図1)。また、膵島移植は、2010年11月に第3項先進医療(高度医療)の承認を受けており(先進医療技術名:重症低血糖発作を伴う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)、2011年までに認定されていた6施設においては膵島移植を高度医療として実施できる体制にある(なお、先進医療と高度医療の一本化のため、2012年10月より高度医療という名称は変更される見込みである)。

2. レシピエントの適応と選択基準

わが国での膵島移植の適応基準は、①内因性インスリン分泌が著しく低下し、インスリン治療を必要とする状態で、②1型糖尿病発症から5年以上経過し、③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な、④原則として75歳以下の患者、としている。しかし、重度の心・肝疾患、アルコール中毒、感染症、悪性腫瘍の既往、重症肥満、未処置の網膜症などを認める場合は禁忌としている。糖尿病性腎症に関しては、第3期Aまでを適応とし、腎移植後膵島移植症例では、移植後6カ月以上経過し、クレアチニン1.8 mg/dl以下で直近6カ月の血清クレアチニンの上昇が0.2以下で、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移植の対象としている。これ

らの適応を満たした症例は、膵島移植班事務局へ登録され、レシピエント選択基準をもとに選択される<sup>2)</sup>。また、現在実施されている臨床試験への参加者に対してはさらに、安全性および有効性への影響を考慮した適格基準、除外基準を定めている。年齢が20~65歳までで、糖尿病専門医によるインスリン強化療法を行っており、12カ月の間に1回以上の重症糖尿病発作の既往があることを主な適格基準としており、BMI 25 kg/m<sup>2</sup>以上、インスリン必要量が0.8 IU/kg/日以上あるいは55 U/日以上、過去1年間に複数回測定したHbA1c値(NGSP値)の平均値が10.4%以上、eGFR 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>以下、といった項目を除外基準に挙げている(UMIN試験ID:UMIN000003977)。

III. 結果と考察

1. レシピエント候補者登録状況

膵島移植の適応基準に基づき<sup>2)</sup>2012年9月末の時点で延べ177名が登録され、3回の移植を終了したものが6名、再判定にて判定保留となったものが2名、辞退者31名、待機中死亡9名あり、レシピエント候補者として129名が待機中である。この候補者に臨床試験の詳細を説明し、臨床試験参加の希望があれば臨床試験参加予定者となり、膵島移植の実施は臨床試験の

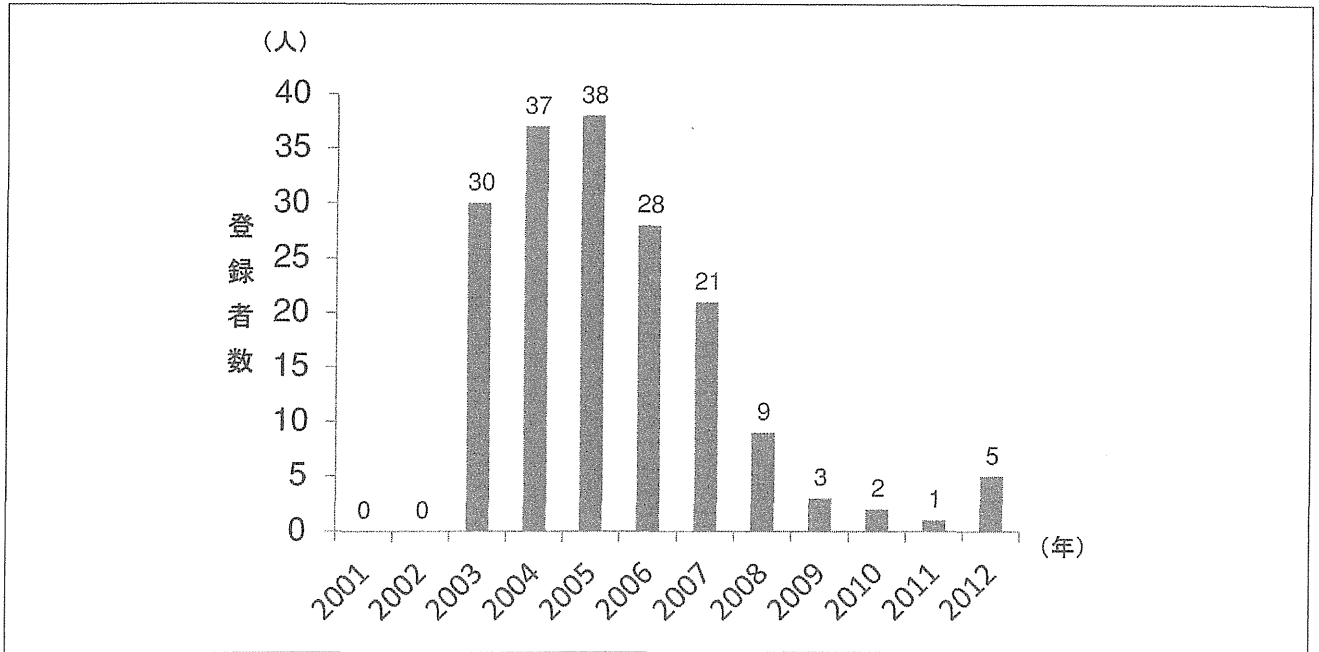


図2 新規登録者数の推移

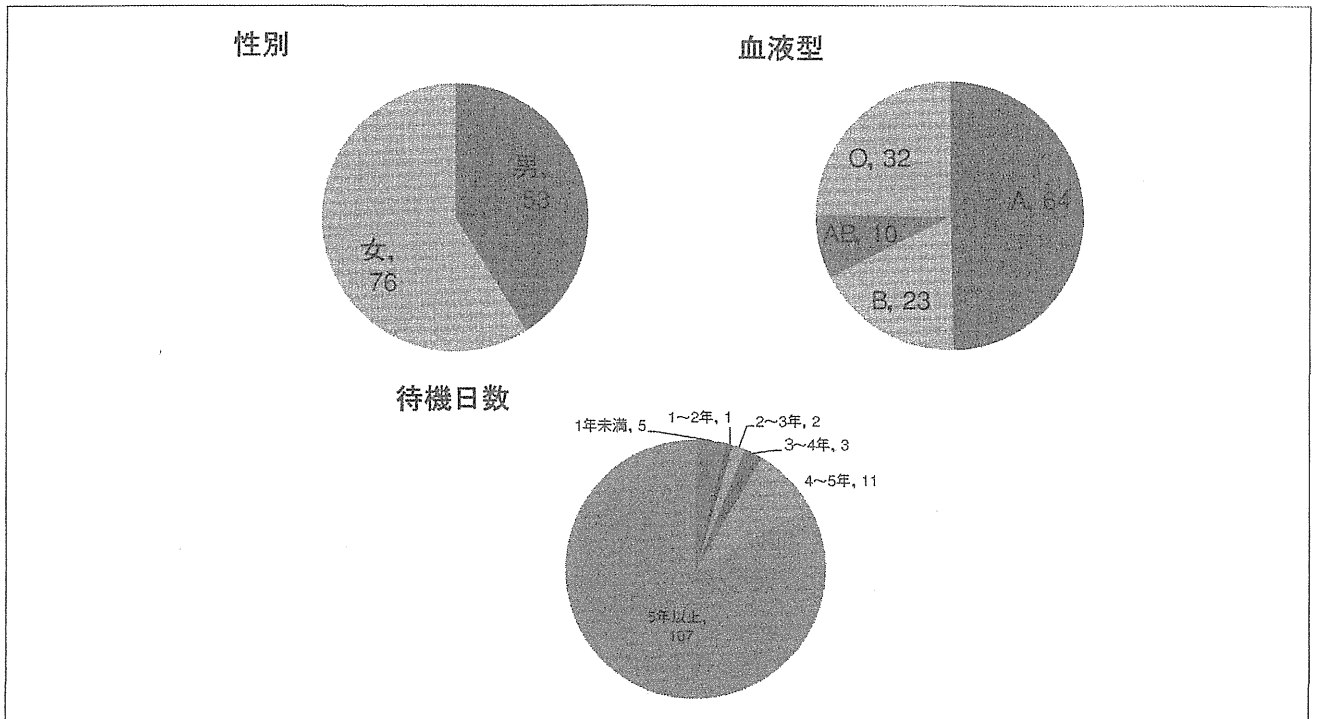


図3 レシピエント候補者情報

プロトコールに従って実施され、臨床試験参加の希望のない候補者および臨床試験参加の適応のない候補者は、臨床試験ではなく従来通りの形式にて脾島移植が実施される。2000年以降の新規登録者数の推移（図2）は、2007年3月以降の臨床脾島移植停止に伴い減少傾向にあったが、臨床試験開始に伴う脾島移植再開

により、新規登録者が増加に転じている。レシピエント候補者の性別、血液型、待機日数を図3に示す。

## 2. 脾島移植フォローアップデータ

2007年12月までに65回の脾島分離が行われ、1例の脳死ドナーを除く64回は心停止ドナーからの提供で、このうち34回で移植の条件を満たしていたため

18 症例（男性 5 例，女性 13 例）に対して膵島移植が行われた。膵島移植後の免疫抑制プロトコールはエドモントン・プロトコールに準じて実施された<sup>13)</sup>。移植症例の平均年齢は 37.3 歳，糖尿病歴は 6~37（平均 20.8）年であった。本邦でのこれまでの膵島移植は 3 回までの移植を行うことを認めており，これらの 18 例に対する移植回数は 1 回 8 名，2 回 4 名，3 回 6 名であった。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 症例で一時的ではあるがインスリン離脱を達成した。インスリン離脱の最長期間は 214 日間であった。本邦における膵島移植症例にエドモントン・プロトコールによる膵島移植の多施設共同研究<sup>3)</sup>における膵島生着の基準である，basal c-peptide level が 0.3 ng/ml 以上を当てはめると，初回移植後 1 年，2 年，5 年時における膵島生着率はそれぞれ 76.5%，47.1%，11.8% であった（図 4）。膵島生着率について，海外の成績と比較するにあたっては，膵島移植後の免疫抑制プロトコールだけでなく，本邦での移植実施例はすべて心停止ドナーからの提供であること，海外でエドモントン・プロトコールによる成績を報告する場合には，3 回の移植実施をされたレシピエントの成績を解析するが，本邦では移植を受けた 18 人のうち 3 回移植を受けられたレシピエントは 6 名に過ぎないこと，などの背景を考慮する必要がある。

重症低血糖発作の定義を，適切な血糖管理下におい

ても，①自分以外の人(他人)による介助を必要とし，かつその際の血糖値が 60 mg/dl 以下である，②自分以外の人(他人)による介助を必要とし，かつ炭水化物の経口摂取，ブドウ糖の血管内投与，グルカゴン投与によって速やかに回復が認められたもの，のいずれかが認められること，とすると，膵島移植既往者の 2011 年末現在の重症低血糖発作の有無は図 5 のような結果となり，膵島非生着と定義されたレシピエントにおいても重症低血糖発作が消失した症例も認められている。

膵島移植に関する有害事象は，免疫抑制剤に関連する有害事象と，移植手技に関連する有害事象が考えられるが，移植手技関連有害事象の報告は 1 例のみで，移植手術手技の低侵襲性を特色とする膵島移植の安全性を示唆する結果が示されている（図 6）。

### 3. 膵島移植臨床試験の進捗状況

これまで本邦で実施してきた膵島移植の成績より，膵島分離成績が不安定でドナーから膵の提供を受けても必ずしも移植が実施できない点，移植膵島障害により 1 人のレシピエントに複数回の移植が必要である点，および長期生着が困難であるという点が今後の一般医療化を阻む問題であると認識された。膵島移植停止の第一の要因となった膵島分離用酵素の問題に関しては，製造過程で哺乳類由来の材料を用いない安全性の高い酵素製剤（Liberase MTF，ロシュ社）が安定し

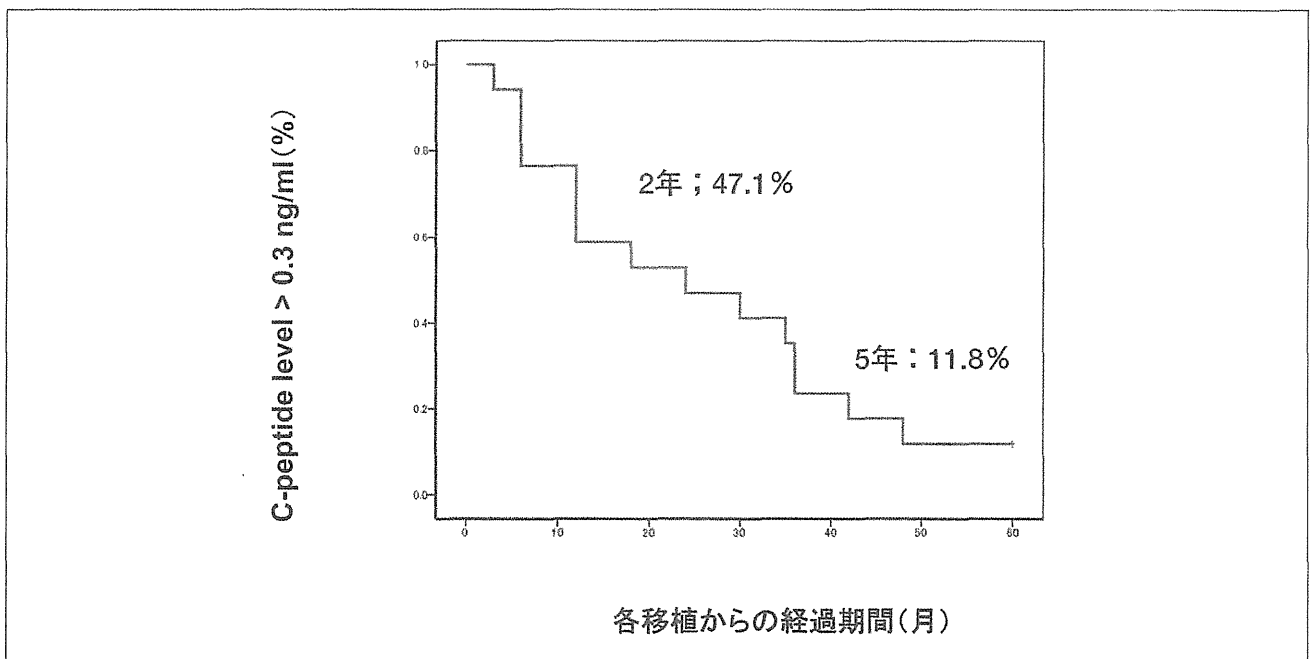


図 4 膵島移植後生着率

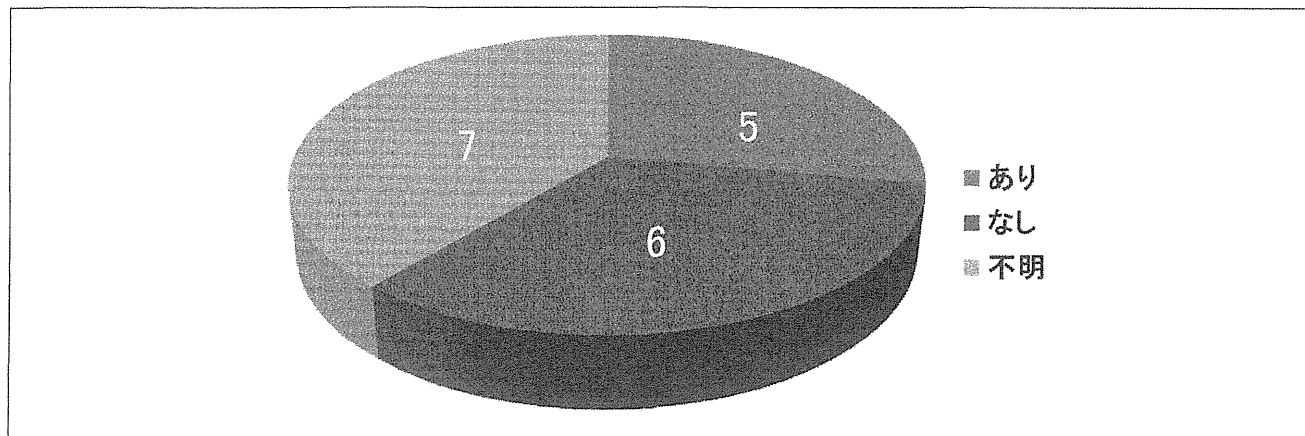


図5 重症低血糖発作の有無

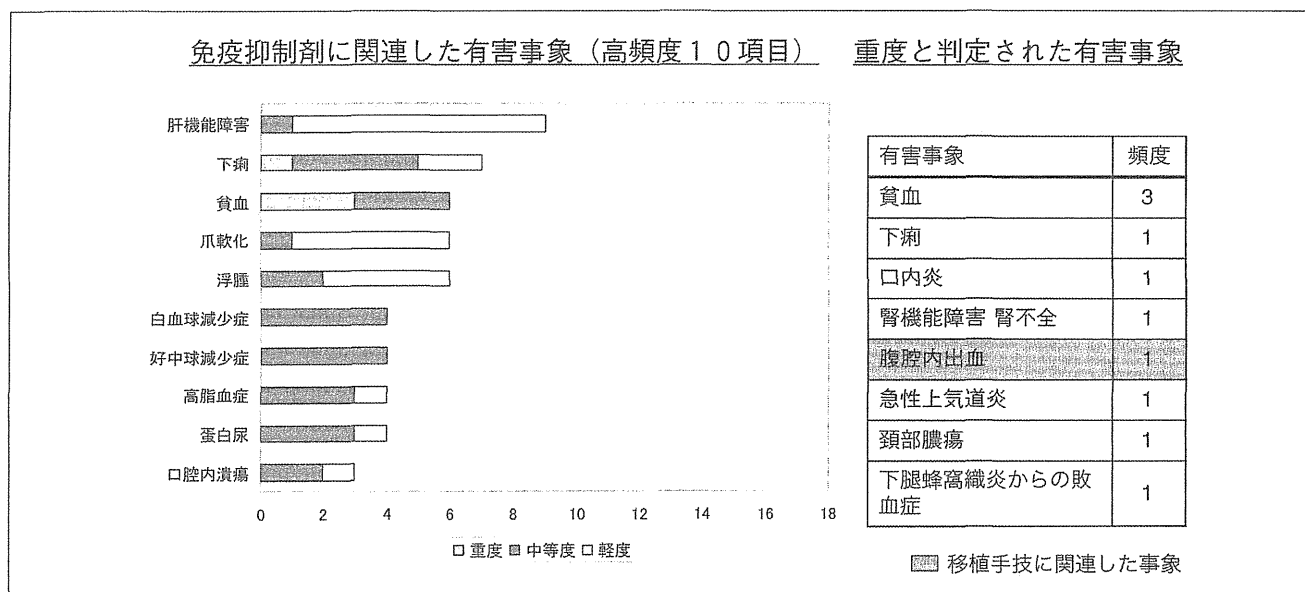


図6 膵島移植に関する有害事象

て入手可能となり、臨床膵島移植実施にあたっての分離用酵素に関する最大の懸念は解決された。この製剤は膵島分離に必要な組成に最適化され精製されており、今後の膵島分離成績の改善も期待される<sup>4)</sup>。また、臨床再開にあたっては長期生着率を改善しうる免疫抑制プロトコルの導入が望まれた。欧米では anti-thymocyte globulin, 抗 TNF $\alpha$  抗体 (etanercept), による導入療法に続いて、低容量 tacrolimus, sirolimus 主体の維持療法を行う方法が現時点でもっとも期待されているプロトコル<sup>3)</sup>とされ、北米を中心に行われている多施設共同第Ⅲ相臨床試験が2011年末に症例登録が完了し、数年後にその結果が公表される見通しである。本邦でもこのプロトコルを踏襲し、本邦の薬剤

入手の状況も踏まえ sirolimus を MMF に替えたプロトコルを作成し (図7), 多施設共同で臨床試験の実施体制を整えた。このプロトコルは、膵島に対する自己免疫反応の抑制, 拒絶反応の予防, 移植直後におけるカルシニューリン阻害剤の減量, 制御性T細胞の誘導, 移植膵島に対する非特異的免疫反応の抑制などにより、移植膵島の生着率を向上させることを目的としている。主要エンドポイントは、初回移植から1年後にHbA1c値 (NGSP値) <7.4%であり、かつ初回移植後90日から移植後365日にかけて重症低血糖発作が消失した患者の割合, としている。日本膵膵島移植研究会を中心に、膵島移植という医療技術を臨床試験として施行することについて、厚生労働省の創