

平成 21 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18390339
 研究課題名（和文）
 1型糖尿病根治治療としての異種膵島移植法の開発
 研究課題名（英文）
 Establishment of pancreatic islet xenotransplantation as a cure for type 1 diabetes
 研究代表者
 藤盛 啓成（FUJIMORI KEISEI）
 東北大学・病院・准教授
 研究者番号：50238622

研究成果の概要：

本研究において、Low Molecular weight Dextran Sulfate (LMW-DS)が異種膵島移植における移植後非特異的炎症反応を効果的に制御し得ることをサルを用いた前臨床モデルにて実証することに成功した。さらに同種膵島移植における非特異的炎症反応と対比させることにより、異種膵島移植における補体関与の重要性を明らかとし、補体阻害ペプチド剤を加えることにより異種膵島移植における移植後非特異的炎症反応をより効果的に制御し得ることを見出した。また、本研究において基礎的検討の結果、異種膵島移植の至適免疫抑制プロトコールとして臨床応用が望めるプログラフ、デオキシスパーガリン、C5a 阻害ペプチド、およびメシル酸ガベキセートの組み合わせが有望であることが判明したため、今後前臨床試験による検討が望まれる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2007年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2008年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：膵島移植、重症糖尿病、異種移植、グラフト障害

1. 研究開始当初の背景

インスリン投与に生命を委ねている1型糖尿病患者は現在世界中に400万人以上いるといわれている。我国においても現在約20万

人の1型糖尿病患者が存在しており、根治療法の確立が急務とされている。低侵襲、合理的な根治療法の一つとして膵島移植が挙げられる。膵島移植は2000年のエドモントンプロトコール確立以来、魅力的な治療法とし

て世界的な注目を集めてきたが、この治療法自体が一人の患者を治癒するために複数のドナーを要することもあり、皮肉にもその成功と普及がドナー不足という現実を一層際立たせる結果となった。この深刻なドナー不足を解消する一つの有力な方法として異種移植が挙げられる。数々のドナー候補の中でも構造的、生物学的、そして倫理的側面からブタが異種移植に最も適したドナーと考えられてきた。さらに異種移植の中でも膵島移植は、以下の様な極めてユニークな性質を有しているため異種移植に最も適した治療法と考えられており、実際の臨床応用が切に望まれている。

(1)ブタのインスリンが長い間ヒトにおいても有効に使用されてきた経緯を有しており、そのアミノ酸構造もヒトとの間で一つしか違いを認めない。

(2)ブタの膵島はブタ体内の数ある他臓器と異なり、超急性拒絶反応の原因となる aGal 抗原を発現していない。

(3)ブタ異種膵島移植では同種移植の場合と異なり複数ドナーからの同時移植が可能であり、エドモントンプロトコールに最適である。

2. 研究の目的

異種膵島移植に関してはこれまでも多くの研究及び臨床的試みがなされてきたが、いずれも特有の免疫学的バリアーに阻まれ、臨床的治療法として確立するまでには至らなかった。そこで本研究においては、異種膵島移植におけるグラフト障害の機序を探求し、その研究成果を基にグラフトの生着を促進すると期待される独創的なプロトコールを確立する事を目的としている。

3. 研究の方法

(1) 低分子硫酸デキストラン (LMW-DS) 使用による強力な移植後非特異的炎症反応の制御

我々のこれまでの *in vitro*、小動物 *in vivo* 研究の成果を基盤とし、前臨床モデルである pig-to-monkey の系で LMW-DS の移植後非特異的炎症反応の制御に関する検討を行う。

(2) 門脈拡張剤導入による膵島グラフト生着促進

小動物モデルを使用し、移植部位となる肝臓内において、門脈拡張剤導入によりグラフトの血管新生が誘導され生着促進が促されるか検討する。

(3) 間葉系幹細胞同時移植による膵島グラフト生着促進

小動物モデルを使用し、間葉系幹細胞同時移植により異種膵島グラフトの生着促進効果が認められるか検討する。

(4) Co-stimulation blockade の異種膵島移植への応用

小動物モデルを使用し、Co-stimulation blockade の導入により異種膵島移植の成績が向上するか検討する。

(5) 異種膵島移植により適した免疫抑制プロトコールの探求

FACS を導入した *in vitro* クロスマッチ試験、*in vivo* 小動物実験を使用し、異種膵島移植により適した免疫抑制プロトコールの検討を行う。

4. 研究成果

(1) 低分子硫酸デキストラン (LMW-DS) 使用による強力な移植後非特異的炎症反応の制御

これまでに我々が移植後非特異的炎症反応の制御効果を見出した Low Molecular Weight Dextran Sulfate (LMW-DS) が、pre-clinical モデルであるブタからサルへの大動物膵島

異種移植実験においても実際に膵島グラフトの生着を促進する事を確認する事ができた(The 3rd symposium of Korean Society of Islet Transplantation、第10回日本異種移植研究会シンポジウムにて報告済み、*Xenotransplantation* 2008:225-234)。さらにLMW-DSを臨床応用する際に重要となる血中濃度の指標としてAPTTの測定が有用である事も本研究において判明した。LMW-DSは至適濃度範囲においてはレシピエントやグラフト膵島へは有害な作用を示さず、安全に使用し得る事が示唆された。大変興味深い事に、LMW-DSによりIBMIRのみではなくTリンパ球のグラフト膵島への浸潤も抑制される事が判明した。この事実は、効果的に原始免疫反応を制御する事により、それに引き続き起こる特異的免疫反応も抑制し得る事を如実に示している。

(2) 門脈拡張剤導入による膵島グラフト生着促進

吸入麻酔剤の一種である isoflurane が強力な肝血管拡張作用と抗サイトカイン作用を有しており、膵島グラフトの生着を促進することを確認できた(論文準備中)。

(3) 間葉系幹細胞同時移植による膵島グラフト生着促進

間葉系幹細胞は、他グループより有用な報告も散見されているが、本研究においては期待に反し異種間の免疫制御作用は発揮せず、またグラフト生着促進作用も十分とはいえず、臨床応用にはさらなる研究の継続が必要であると思われた。

(4) Co-stimulation blockade の異種膵島移植への応用

Co-stimulation blockade 抗体によるアネルギー誘導プロトコールは、小動物における移植実験では有用であると思われたが、臨床応用に際してはブタ膵島の安定培養法を樹立する必要があるという課題が判明し、引き続きさらなる研究の継続が必要である。

(5) 異種膵島移植により適した免疫抑制プロトコールの探求

本研究により、同種に比し異種間における移植後非特異的炎症反応においては補体の占める役割が遥かに大きいことを見出したため、LMW-DSにさらに抗補体ペプチド剤を加えることにより移植後非特異的炎症反応をより効果的に制御し得ることが明らかとなった(*Transplantation Proc* 2009:67)。また、in vitro クロスマッチ試験の結果、これまでにプログラフおよびデオキシスパーガリンという既に臨床応用されている薬剤の組み合わせが有望である事も判明した。そこで、異種膵島移植における移植後非特異的炎症反応およびその後継続する特異的炎症反応を効果的に制御する有用なプロトコールの一つとして、プログラフ、デオキシスパーガリン、C5a 阻害ペプチド、メシル酸ガベキセートの組み合わせを見出すことができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. C5a inhibitory peptide combined with gabexate mesilate is a clinically available candidate for preventing the instant blood-mediated inflammatory reaction

Tokodai K, Goto M, Imura T, Ogawa N, Fujimori K, Kurokawa Y, Okada H, Satomi S
Transplantation Proc 2009:67-68

査読:有

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, Kurokawa Y, Matsue T, Satomi S
Transplantation Proc 2009:311-313

査読:有

3. 膵島移植の現状と展望

後藤昌史

最新医学 2009;64:45-45

査読:無

4. Dissecting the instant blood-mediated inflammatory reaction in islet xenotransplantation.

Goto M, Tjernberg J, Dufrane D, Elgue G, Brandhorst D, Ekdahl KN, Brandhorst H, Wennberg L, Kurokawa Y, Satomi S, Lambris JD, Gianello P, Korsgren O, Nilsson B
Xenotransplantation 2008:225-234

査読:有

5. Optimization of a Prominent Oxygen-Permeable Device for Pancreatic Islets

Goto M, Yoshikawa Y, Matsuo K, Shirasu A, Ogawa N, Takahashi H, Saitoh Y, **Fujimori K**, Kurokawa Y, Tamai M, Satomi S
Transplantation Proc 2008:411-412

査読:有

6. Influence of a current style of culture on the quality of isolated pancreatic islets

Takahashi H, **Goto M**, Ogawa N, Saitoh Y, **Fujimori K**, Kurokawa Y, Doi H, Satomi S
Transplantation Proc 2008:358-359

査読:有

7. Establishment of a novel predictive assay for the viability of isolated pancreatic islets

Goto M, Holgersson J, Kumagai-Braesch M, Korsgren O
American Journal of Transplantation 2006:2483-2483

査読:有

8. Low molecular weight dextran sulfate abrogates the allogeneic instant blood mediated inflammatory reaction (IBMIR): A strong candidate drug to improve clinical islet transplantation

Johansson H, **Goto M**, Siegbahn A, Elgue G, Korsgren O, Nilsson B
American Journal of Transplantation 2006:305-305

査読:有

[学会発表] (計 7 件)

1. Key issues in islet xenotransplantation
Masafumi Goto, Susumu Satomi
4th Xenotransplantation Seoul Forum
2008, Nov 8, Seoul, Korea

2. 東北大学における膵島移植の取り組み
後藤昌史、檜尾好徳、小川則彦、山谷英之、高橋英幸、齋藤之彦、戸子台和哲、関口 悟、石原寿光、**藤盛啓成**、黒川良望、岡 芳知、里見 進
第44回日本移植学会
2008年9月20日、大阪

3. C5A INHIBITORY PEPTIDE COMBINED WITH GABEXATE MESILATE IS A CLINICALLY AVAILABLE CANDIDATE FOR PREVENTING THE INSTANT BLOOD-MEDIATED INFLAMMATORY REACTION
Kazuaki Tokodai, **Masafumi Goto**, Takehiro Imura, Norihiko Ogawa, **Keisei Fujimori**, Yoshimochi Kurokawa, Hidechika Okada, and Susumu Satomi
XXII International Congress Of The Transplantation Society
2008, Aug 12, Sydney, Australia

4. Current status of islet xenotransplantation
Goto M
Keio University International Symposium on Cellular Bioengineering 2008
2008年3月12日、Tokyo

5. Optimization of a prominent oxygen-permeable device for pancreatic islets

Goto M

2007 International Pancreas and Islet
Transplant Association (IPITA)
2007年9月15日, Minneapolis (USA)

6. 膵島移植の現状と展望

後藤昌史

第50回日本糖尿病学会
2007年5月24日, 仙台

7. 膵島移植 -糖尿病根治におけるメディカ
ルイノベーション-

後藤昌史

第46回日本生体医工学会
2007年4月25日, 仙台

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤盛 啓成 (FUJIMORI KEISEI)
東北大学・病院・准教授
研究者番号: 50238622

(2) 研究分担者

後藤 昌史 (GOTO MASAFUMI)
東北大学・国際高等研究教育機構・准教
授
研究者番号: 50400453

関口 悟 (SEKIGUCHI SATOSHI)
東北大学・病院・助教
研究者番号: 20312580

川岸 直樹 (KAWAGISHI NAOKI)
東北大学・病院・講師
研究者番号: 00333807

土井 秀之 (DOI HIDEYUKI)
東北大学・病院・准教授
研究者番号: 90188839

(3) 連携研究者

なし