

平成 22 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2010

課題番号：19591588

研究課題名（和文） 分割膵島・膵同時移植の確立

研究課題名（英文） Establishment of simultaneous islet cell and pancreas transplantation from a splitting single-donor pancreas.

研究代表者

松本 逸平 (MATSUMOTO IPPEI)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30379408

研究成果の概要（和文）：

我々は臓器保存中に酸素供給を可能とする二層法を開発し有用性を証明してきた。膵島分離過程中に酸素化を導入し、さらなる膵島収量の増加、機能の向上の達成が可能であると考えた。膵島分離過程において①膵消化における酸素化②低圧コラゲナーゼ膵管内注入法③膵島輸送法における酸素化の有用性を、ラットモデルを用いて実験的に検討した。①②においては膵島収量、膵島機能も従来法より改善した。③においては、有用性は証明されなかった。

研究成果の概要（英文）：

We have developed a two-layer pancreas preservation method, which supplies oxygen during preservation, and reported efficacy of its use for pancreas and islet cell transplantation. We apply this concept (oxygenation) to the islet isolation process to obtain more islets. We investigated the efficacy of oxygenation during pancreas digestion process (A), low pressure-controlled injection of collagenase (B) and oxygenation on isolated islets during transportation (C). Islet yield and function were improved in protocol A and B. However, there was no advantage in protocol C.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科

キーワード：膵島移植、膵臓移植、移植外科学、二層法

1. 研究開始当初の背景

膵臓移植及び膵島移植は1型糖尿病に対する根治的治療法であるが、ドナー不足は深刻で移植の恩恵を受ける患者数はごく限られている。

一方、限られた施設ではあるが部分膵（膵体尾部）を用いた生体膵臓移植が行われ良好な成績を報告している。一方で膵島移植では1ドナー1レシピエントの移植は、膵島収量、viabilityの面からも未だ不十分である。

我々は移植前膵保存法として保存中も臓器に酸素を供給できる二層法保存を開発した。二層法保存では膵は酸素化によりATPを合成し、膵臓移植における長期膵保存、温阻血障害からの機能回復、膵島移植における膵島収量増加、分離膵島viabilityの向上を実験的、臨床的に証明してきた。結果、移植成績の向上、特に膵島移植における収量増加には膵の酸素化が極めて重要であると認識した。

そこで、二層法あるいは膵島分離過程に酸素化を導入し、さらなる膵島収量の増加、viabilityの向上の達成が可能であると考えた。最終的には1提供膵を2分割し、分割膵島移植・膵臓移植の可能性を検討する。

2. 研究の目的

本研究は、特にドナー不足が深刻な我が国の現状を鑑み、一人のドナーから提供を受けた膵臓を分割し、複数のレシピエントに移植する（膵臓移植と膵島移植）可能性につき検討することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) イヌ膵を用い、実際の臨床膵島移植で行われている膵島分離法を行い、手技確立を行った。

(2) 膵島分離の膵消化過程において膵の酸

素化が膵島収量、viability、移植成績を向上させるかどうか検討した。ラット膵島分離の消化過程において酸素化PFCの有無(group 2, 1)、adenosine添加の有無(B, A)に別け検討した。

(3) 膵島分離の膵消化過程における低圧膵管内コラゲナーゼ注入法が膵島収量及び機能を改善するかどうかラット膵を用いて以下の2群で検討した。1群：注入圧80 mmHg、2群：注入圧180 mmHg。

(4) 分離膵島を移植施設まで搬送する際の至適搬送方法はこれまで検討されていない。搬送の間、相当量の膵島が破壊、死滅すると考えられている。膵島のロスを最小限にするため酸素化PFCが有効かどうかラット分離膵島を用いて検討した。純化したラット膵島を以下の4群に分けてairtight conical tubeに24時間密封後比較検討した。1群：22°C RPMI、2群：22°C RPMI+PFC、3群：4°C UW、4群：4°C UW+PFC。

4. 研究成果

(1) 膵島消化後収量：46,000±19,000 IE, Quality score: 7.1±0.5, 膵島純化後収量5,000±1,700 IE, Quality score: 3.7±3.2であった。

Ricordi法によるコラゲナーゼを用いたイヌ膵消化では、高い膵島収量が得られた。しかしながらイヌ消化後膵島は非常にfragileであり、COBE2991Cell Processorを用いたイヌ膵島純化は困難であった。膵島分離において、分離中の膵島保護を目的としたアルブミン使用の必要性が示唆された。

(2) 膵組織酸素分圧は1群では0であったの

に対し、2群では速やかに300 mmHgまで上昇し、維持された。膵組織ATP濃度は2B群で高値であり(1A:0.12±0.03, 1B:0.7±0.1, 2A:0.3±0.18, 2B:2.9±0.8 mmol/g dry weight)、膵島収量も有意に高値であった(1A:1600±400, 1B:1400±400, 2A:1300±400, 2B:2400±100 IEQ/pancreas, P<0.05)。

膵島糖負荷に対するインスリン分泌能、マウスへの移植成績は4群間で差がなかった。

酸素化PFCとadenosine添加による本法は膵内ATPを産生し、膵島収量を著明に増加させた。Viabilityに関しては従来法に遜色なく、今後臨床応用が期待される。

(3)膵島純化度は差がなかったが、1群(1100±160 islets with 2750±530 IEQ)では2群(900±130 islets with 1570±350 IEQ)に比較し有意に膵島収量が多く(p<0.01)、特に150 micron以上の膵島数が有意に1群に多かった。また、糖負荷試験によるインスリン反応も1群で有意に高かった(SI: 2.88±1.12 vs 1.93±0.62, p<0.05)。さらに1群はヌードマウスへの移植成績も有意に優れていた(生着率: 80% vs 30%, p<0.05)。移植後28日目におけるIPGTTのAUCは1群で有意に高値であった(p<0.05)。

低圧コラゲナーゼ注入法による膵島分離法は膵島収量、膵島機能を著明に改善した。現在臨床で使用されている高圧注入法は見直すべきである。

(4)1群と3群ではislet qualityはin vitro及びin vivoとも同等で維持されていた。膵島ATPはPFC添加群(2、4群)で有意に非添加群(1、3群)より低下していた。また同様にADP/ATPも有意に高値であった。マウスへの移植実験では4群の移植後血糖値とAUCは3群に比較して、有意に高値であ

った。

膵島輸送における酸素化PFCの添加は膵臓保存にみられた有用性は認めなかった。

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9件)

- ① Terai S, Tsujimura T, li S, Hori Y, Toyama H, Shinzeki M, Matsumoto I, Kuroda Y, Ku Y. Effect of oxygenated perfluorocarbon on isolated islets during transportation. J Sur Res. 2009 (in press) 査読有
- ② Ihm SH, Matsumoto I, Zhang HJ, Ansite JD, Hering BJ. Effect of short-term culture on functional and stress-related parameters in isolated human islets. Transpl Int. 2009, 22(5): 531-533 査読有
- ③ Hori Y, Fukumoto M, Kuroda Y. Enrichment of putative pancreatic progenitor cells from mice by sorting for prominin1 (CD133) and platelet-derived growth factor receptor beta. Stem Cells 2008, 26(11): 2912-2920 査読有
- ④ 辻村敏明、黒田嘉和 膵臓および膵島移植における保存法. 移植 2008, 43(5): 351-356. 査読有
- ⑤ Li S, Sakai T, Suzuki Y, Goto T, Tanaka T, Yoshikawa T, Kakinoki K, Tanioka Y, Matsumoto I, Fujino Y, Kuroda Y. Improved quantity and in vivo function of islets isolated by reduced pressure-controlled injection of collagenase in a rat model. Cell

Transplantation 2007, 16(5): 539-545.
査読有

- ⑥ Goto T, Tanioka Y, Sakai T, Terai S, Kamoda Y, Li S, Tsujimura T, Matsumoto I, Fujino Y, Suzuki Y, Kuroda Y. Application of the two-layer method on pancreas digestion results in improved islet yield and maintained viability of isolated islets. Transplantation 2007, 27; 83(6): 754-758. 査読有

- ⑦ 谷岡康喜、酒井哲也、仲井照和、大河原弘達、黒田嘉和 摘出膵をヘリコプターで搬送し、膵島移植を施行した1例。移植 2007, 42(5): 470-473. 査読有

- ⑧ 大河原弘達、谷岡康喜、酒井哲也、春日雅人、黒田嘉和 提供膵からみた膵島移植の現状と問題点 当施設における経験 移植 2007, 42(4): 354-358. 査読有

- ⑨ Ihm SH, Matsumoto I, Sawada T, Nakano M, Zhang HJ, Ansite JD, Sutherland DE, Hering BJ. Effect of donor age on function of isolated human islets. Diabetes 2006, 55(5): 1361-1368

[学会発表] (計5件)

- ① 松本逸平 脳死水腎同時移植後グラフト静脈血栓に対しIVR下血栓除去が奏効した1例 第37回日本膵・膵島移植研究会 2010/3/12 宇都宮
- ② 辻村敏明 膵島移植における膵島輸送方法の検討 第44回日本移植学会総会 2008/9/21 大阪
- ③ 辻村敏明 膵島移植における膵島輸送法の検討 第108回日本外科学会定期学術集会 2008/5/17 長崎
- ④ 松本逸平 酸素化PFC/UW solution (二層法)を膵島分離前膵保存に用いた脳死及び心停止下臨床膵島移植 日本消化器病学

会近畿支部第88回例会 2008/2/16 大阪

- ⑤ 谷岡康喜 多段階二層法による膵島移植の確立 第43回日本移植学会総会 2007/11/23 仙台

[図書] (計1件)

谷岡康喜、黒田嘉和 (分担執筆) シュプリンガー・ジャパン株式会社 膵臓移植-糖尿病根治を目指して- 2009年 p131-137

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 逸平 (MATSUMOTO IPPEI)
神戸大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 30379408

(2) 研究分担者

- ・ 辻村 敏明 (TSUJIMURA TOSHIAKI)
神戸大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 30403249
(2007~2008)
- ・ 新関 亮 (SHINZEKI MAKOTO)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 60444593
- ・ 堀 裕一 (HORI YUICHI)
神戸大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 80248004
- ・ 黒田 嘉和 (KURODA YOSHIKAZU)
神戸大学・医学研究科・名誉教授
研究者番号: 70178143
- ・ 具 英成 (KU YONSON)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 40195615
- ・ 外山 博近 (TOYAMA HIROCHIKA)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 10444598
- ・ 谷岡 康喜 (TANIOKA YASUKI)
神戸大学・医学研究科・COE 研究員
研究者番号: 00372649
(2007)