

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08794

研究課題名(和文) 膵島移植における免疫隔離膜を応用した皮下移植の検討

研究課題名(英文) Usefulness of Subcutaneous Transplantation of Pancreatic Islets Using Immune Isolation Membrane

研究代表者

村上 真 (Murakami, Makoto)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師

研究者番号：00334821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：免疫隔離を有したバイオ人工膵の形状と移植部位との関係を研究した。どのタイプも培養保存により、膵島数は7割程度に減少したが、インスリン基礎分泌量は1か月間保たれた。どのタイプにおいても移植後、体重の増加と飲水量の減少が認められた。腹腔内移植ではビーズタイプの移植効果が最も高かった。皮下移植では、ブロックとシートタイプが良好であった。ブロックタイプは、腹腔内移植と同等の効果が得られ、バイオ人工膵の破損が少なく摘出も容易であった。皮下移植においては、皮下組織での血管増生は、血糖やインスリン分泌の反応には有用であり、移植直後の低酸素に対してはブロックの移植とともに封入される空気が重要であると思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実臨床における膵島移植では、膵島の門脈内移植が行われているが、免疫反応や低酸素などの課題も多く皮下や腹腔内移植が注目を浴びている。本研究で免疫隔離膜で封入されたバイオ人工膵には移植部位により適切な形状があることが分かった。腹腔内ではビーズタイプが有効であるが、摘出を考えると臨床応用では課題がある。皮下ではブロックタイプが摘出のしやすさと移植効果から最も有効な形状と判明した。バイオ人工膵の皮下移植は、血管増生処理なしでは随時血糖を正常化する事は難しいが、糖尿病の臨床症状を改善させる効果は認められた。また皮下移植における空気存在は、早期の機能低下を回避する作用を有すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the relationship between the shape of a bioartificial pancreas with immunoisolation and the transplant site. In all types, the number of pancreatic islets decreased by about 70% during culture preservation, but the basal insulin secretion level was maintained for 1 month. After transplantation, an increase in body weight and a decrease in water drinking were observed in all types. In intraperitoneal transplantation, the bead type had the highest transplantation effect. For subcutaneous transplantation, block and sheet types performed well. The block type had the same implantation effect as intraperitoneal implantation and was easy to remove with less damage. The growth of blood vessels in the subcutaneous tissue is useful for the response of blood glucose and insulin secretion, and the air encapsulated in the block seems to be important for hypoxia immediately after transplantation.

研究分野：消化器外科

キーワード：膵島移植 皮下移植 腹腔内移植 バイオ人工膵島

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

実臨床における膵島移植では膵島の門脈内移植が行われているが課題も多く、バイオ人工膵と皮下移植が有用視されている。皮下移植では摘出が可能で簡便である一方、膵島の栄養や酸素の不足が問題となっている。これまで、移植部位別にどのような形状のバイオ人工膵島移植が有効なのかは分かっていない。

### 2. 研究の目的

今回、腹腔内移植と皮下移植においてバイオ人工膵の形状の違いが移植効果に与える影響を検討した。

### 3. 研究の方法

#### 材料と方法

##### (1) 実験動物

ドナー：14週齢以上の雄性 Lewis ラット、レシピエント：糖尿病(DM)を誘導された10週齢雌性 Lewis ラット。

##### (2) 人工膵の作成 (図1)



図1 膵島封入前のバイオ人工膵。a:ブロック、b:シート、c:ビーズ(拡大)

膵島封入後のバイオ人工膵。d:ブロック、e:ブロック( $\times 4$ 倍)

#### 評価項目

ラットの体重と飲水量の測定(normal rat と DM ラットの比較)、培養期間延長に伴う膵島の個数とインスリンの基礎分泌量測定(bare islet とバイオ人工膵の比較)、移植効果(3タイプのバイオ人工膵島移植)。

### 4. 研究成果

#### (1) ラットの体重と飲水量の変化

1) 体重変化：正常ラットの平均体重は、測定開始(8週齢)は $163.4 \pm 1.5$  gで、5週後(13週齢)は $212.4 \pm 5.5$  g、9週後(17週齢)は $232.2 \pm 1.3$  gであった。17週例までほぼ直線的に体重は増加した。(図2-a)糖尿病ラットは、開始時(9週齢) $189.9 \pm 9.1$  g、5週後(14週齢) $186.6 \pm 13.6$  gであった。5週間で平均体重はわずかに減少した( $-1.85 \pm 4.4\%$ )、(図2-b)観察5週間目の平均体重はDMラットの方が有意に低下していた( $p < 0.01$ )。

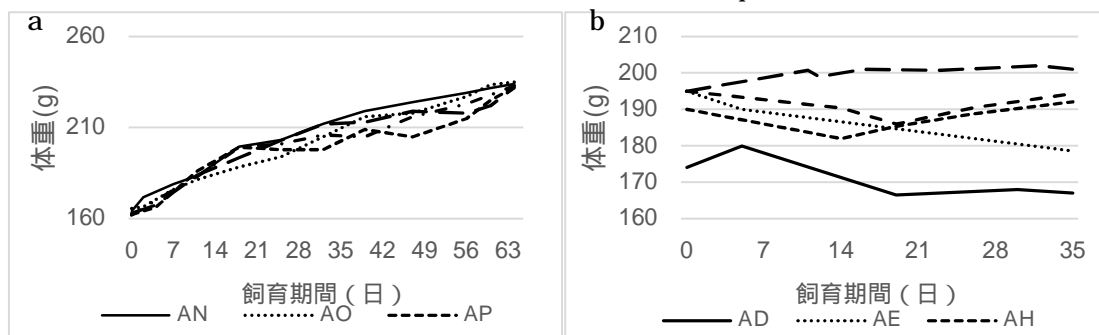


図2 ラットの体重変化 正常ラット群(a) 糖尿病ラット(b)

2) 飲水量の変化：正常ラットの平均飲水量は、測定開始(8週齢) $24.1 \pm 1.4$  ml/d、5週後(13週齢) $22.8 \pm 1.6$  ml/d gであった。5週間で11.8%減少したが、その後も体重増加に関係なく

20ml/d 前後で推移していた (図 3-a)。

DM ラットの平均飲水量は、測定開始時 (8 週齢)  $23.3 \pm 0.8\text{ml}$ 、STZ 投与後 1 週間で  $70.2 \pm 10.2\text{ml}$ 、5 週後で  $78.4 \text{g} \pm 1.7\text{ml}$  であった。糖尿病を誘導して 1 週間で急激に増加し、5 週間で 237%と有意に増加した (図 3-b)。

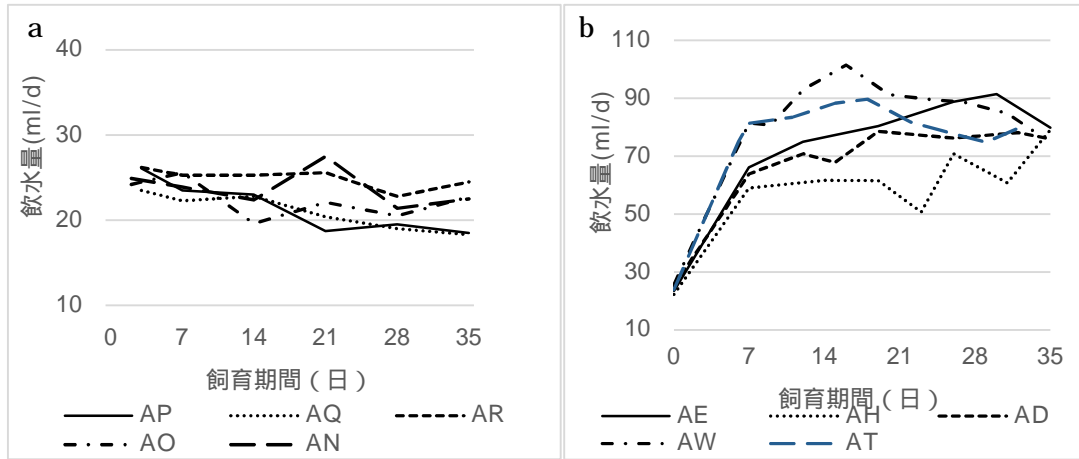


図 3 ラットの飲水量 (ml/d) の変化 コントロール群 (a)、糖尿病群 (b)

(2) Bare islets の培養保存延長に伴う膵島個数 (生存率) とインスリン基礎分泌量の変化

1) 生存率: 培養の延長に伴い、4 週間で 54.4%に減少した (図 4-a)。個数の減少は分離に伴う損傷により減少した以外に、膵島同士の癒合によるものもあった。

2) 基礎分泌量: 培養 12 日目で 114.8%まで上昇し、培養 28 日目で 92.3%に減じ横ばいとなった (図 4-b)。一時的な上昇は、分離で障害を受けた膵島の機能が戻ってきたのと、膵島の死滅によるインスリンの放出が考えられた。

3) Bare islets10 個当たりのインスリン分泌量: インスリンの分泌量を 10 個あたりに換算すると培養 14 日目で  $60.8 \mu\text{IU}$  に増加し、その後は横ばいとなった (図 4-c)。膵島の個数は死滅により減少したが、膵島の癒合により大きくなり 1 個あたりの分泌量は増加したと考えられた。

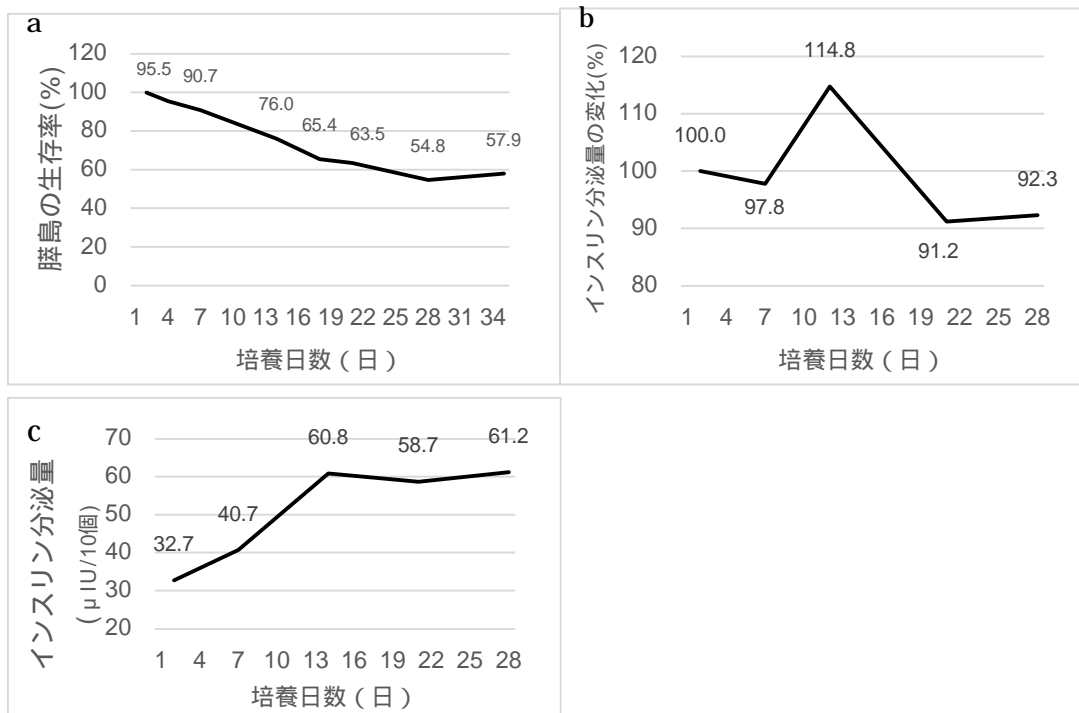


図 4 培養延長に伴う bare islets の個数変化 (生存率) (a)、基礎分泌量 (b)、bare islets10 個当たりのインスリン分泌量(c) (培養 1 日目の個数とインスリン分泌総量を 100 として換算し平

均値をプロットした。n=10)

### (3) バイオ人工膵における培養延長に伴う膵島個数とインスリン基礎分泌量の変化

1) **生存率**：培養 35 日目で、ブロック：54.9%、シート：71.0%、ビーズ：69.0%であった(図 5-a)。Bare islets と比較してシートとビーズタイプの生存率は良好であった。生存率の低下はアガロースで膵頭は固定され膵島同士の癒合はないので、膵島の死滅によるものと考えられる。

2) **基礎分泌量**：培養 7 日目のインスリン基礎分泌量を 100%とし培養 35 日目の変化率で評価した。ビーズ(n=11)が  $91.6 \pm 15.6\%$ 、シート(n=10)が  $94.9 \pm 10.7\%$ 、ブロック(n=8)が  $101.8 \pm 34.7\%$ でどのタイプにおいても良好に維持されていた(図 5-b)。膵島の生存率が低下しても基礎分泌量が低下しないのは、培養で消失した膵島は分離段階での障害により測定開始時から内分泌機能が低下もしくは消失していたと考えられる。今回作成したバイオ人工膵は Bare islets のような培養保存に伴う分泌量の増加は認められなかった。

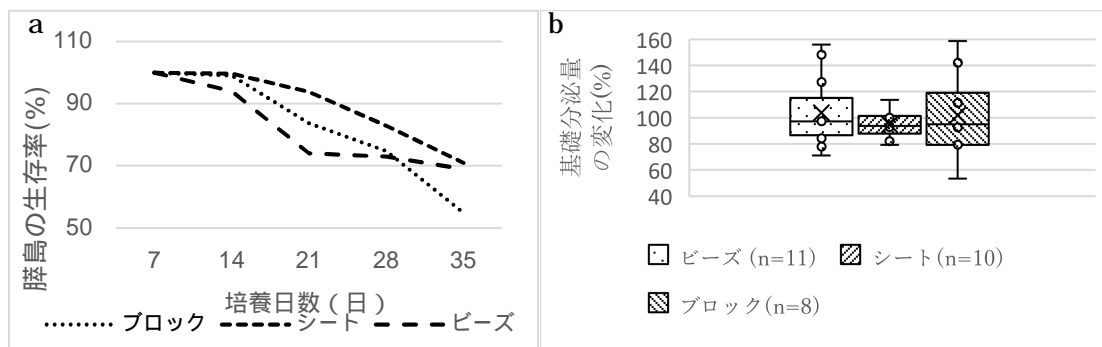


図 5 バイオ人工膵の培養保存に伴う膵島の生存率(%)の変化(a)と培養保存に伴うインスリン分泌量の変化(%) (b)。培養 7 日目と 28 日目の測定値を比較した。

### (4) 移植効果

1) **腹腔内移植**：3つのタイプのバイオ人工膵を糖尿病ラットの腹腔内に移植し、移植時と移植後 7 週間後の体重(g)と飲水量 (ml/d) 測定し変化率で評価した(表 1-1)。体重の増加率は、ビーズ ( $17.9 \pm 5.5\%$ )、シート ( $15.5 \pm 9.4\%$ )、ブロック ( $9.4 \pm 1.5\%$ )の順に良好であった。飲水量の減少率はビーズ ( $36.8 \pm 28.8\%$ )、ブロック ( $36.0 \pm 9.9\%$ )、シート ( $19.4 \pm 11.1\%$ )の順に良好であった。腹腔内移植ではビーズが他のタイプよりも有意に良好だった。

バイオ人工膵	移植部位	体重増加 (%)	飲水量減少 (%)
ブロック	腹腔内(n=5)	$6.7 \pm 1.6$	$36.0 \pm 9.9$
シート	腹腔内(n=5)	$7.0 \pm 5.2$	$19.4 \pm 11.1$
ビーズ	腹腔内(n=5)	$14.5 \pm 8.6$	$36.8 \pm 28.8$

表 1-1：腹腔内移植における糖尿病ラットの体重と飲水量の変化(%)

2) **皮下移植**：3つのタイプのバイオ人工膵を糖尿病ラットの皮下に移植し、移植時と移植後 7 週間後の体重(g)と飲水量 (ml/d) の変化を測定した(表 1-2)。体重の増加率は、ブロック ( $11.8 \pm 3.2\%$ )、シート ( $11.4 \pm 8.1\%$ )、ビーズ ( $8.3 \pm 2.4\%$ )の順に良好であった。飲水量の減少率は、ブロック ( $38.0 \pm 7.8\%$ )、シート ( $30.6 \pm 18.7\%$ )、ビーズ ( $15.2 \pm 7.8\%$ )の順に良好であった。皮下移植ではビーズタイプが他のタイプよりも糖尿病の移植効果が有意に低かった。

バイオ人工膵	移植部位	体重増加 (%)	飲水量減少 (%)
ブロック	皮下(n=5)	$11.8 \pm 3.2$	$30.4 \pm 6.2$

シート	皮下(n=5)	12.6 ± 7.4	21.4 ± 16.4
ビーズ	皮下(n=5)	5.7 ± 2.6	10.1 ± 7.6

表 1-2：皮下移植における糖尿病ラットの体重と飲水量の変化(%)

#### 考察

バイオ人工膵の皮下移植は、現時点では血管増生処理なしで随時血糖を正常化する事は難しいが、糖尿病の臨床症状を改善させる効果は認められた。In vitro では3タイプに膵島の生存率や内分泌機能に差は認められなかったが、移植部位では差が認められた。その要因として、皮下移植における空気存在が関与していると考えられた。移植と同時に封入される空気が多いと、移植直後の低酸素状態は1~2週間回避できる。ビーズは培養液に浮遊した状態で移植し最終的には一か所に集簇する。またシートタイプも厚さが無く皮下組織と密着した状態で移植されるので空気は殆ど入る事はない。ブロックは厚さが1.2cm程度の直方体なので、移植スペースも広く周囲組織との間隙も多くなり、同時に封入される空気量は多くなる。腹腔内は、空気は存在しないが腹膜が細胞の生着には適しており、より小さいビーズタイプが有利だと考えられた。皮下移植を、血管増生などの前処置を行わず効果的に行うには、十分量の膵島と空気を同時に封入できるデバイスの開発が必要である。

#### 結語

免疫隔離膜で封入された膵島は、移植部位により適切な形状があることが分かった。腹腔内ではビーズタイプが有効であるが、摘出を考えると臨床応用では課題がある。皮下ではブロックタイプが摘出のしやすさと移植効果から最も有効な形状と判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森川 充洋  (Morikawa Mitsuhiro)  (20569131)	福井大学・学術研究院医学系部門・助教    (13401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関