

令和元年5月7日現在

機関番号：37111

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19692

研究課題名（和文）iPS細胞由来膵島細胞による血管化膵島の開発

研究課題名（英文）Development of angiogenic pancreatic islets using iPS cell-derived pancreatic islet cells

研究代表者

坂田 直昭（SAKATA, Naoaki）

福岡大学・医学部・准教授

研究者番号：50431565

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：膵島移植は、ドナーの膵島を移植することによって重症糖尿病を改善する細胞治療法である。膵島移植の課題として、常時提供することが可能な新たなドナー源の確立、移植された膵島の早期血流回復が挙げられる。本研究では血管を付帯させた膵島を開発すること、さらにiPS細胞由来の膵島細胞に血管を付帯させたいわゆる血管化膵島を開発することを目指した。その結果、マウス膵島を用いた血管化膵島の作成に成功し、糖尿病動物への移植により血糖値の改善が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、移植する膵島にあらかじめ血管を付帯させる、いわゆる血管化膵島を開発する研究であり、特にiPS細胞由来の膵島細胞を用いた血管化膵島を開発を目指した。結果、マウス膵島からなる血管化膵島の作成と移植実験における有効性という点で一定の成果を挙げることができた。今後、iPS細胞はもちろんのこと、ブタなどの大型動物を利用した血管化膵島を実用化することができれば、膵島移植におけるドナー不足の問題が解決し、多くの重症糖尿病患者がこの治療の恩恵を受けられるようになることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Islet transplantation is a cellular therapy for improving control of blood glucose by transplantation of islets. The major obstacles of the therapy are limited donor supplies and ischemia. In this study, we attempted to develop angiogenic islets using rodents and using human iPS cell-derived islet cells. We succeeded to develop angiogenic islets using islets acquired from mice and certified decrease of blood glucose after transplantation of the angiogenic islets.

研究分野：膵島移植

キーワード：膵島移植

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 膵島移植とその課題：膵島移植はドナーの膵ランゲルハンス島（膵島）を移植することにより血糖変化に応じたインスリンの供給を可能にする、血糖管理が不安定な糖尿病患者に対する有効な治療法である。膵島移植の最大の課題はドナー不足の解消であるが、脳死ドナーが利用できるようになった昨今においても膵島移植のためのドナー膵臓は増加していないため、新たなドナー源の確保が急務である。

(2) 新しいドナーソースとしての幹細胞由来膵島細胞への期待と課題：iPS 細胞を始めとする幹細胞から膵島細胞を効率良く作成できるようになってきていること、報告されている幹細胞由来膵島細胞に膵島としての機能が認められている (Konagaya S, et al. *Biochim Biophys Acta*. 2016) ことから、幹細胞由来の膵島細胞は膵島移植のドナーとしての有効利用が期待できる。膵島に代わるドナー細胞の目処が立ちつつある今、作成された膵島細胞を効率良く生着させるための移植手法の確立が重要である。膵島移植において、多くの移植膵島は移植早期の虚血を始めとする様々な要因により生着できずに脱落する。移植早期の膵島の血流回復を試みる研究が数多くなされたが、その多くが移植後に新生血管を誘導するための処置であり、移植直後の膵島が虚血にさらされることの根本的な解決にはならない。

2. 研究の目的

膵島、iPS 細胞由来膵島細胞による血管化膵島の作成とその機能評価：本研究では膵島、iPS 細胞由来膵島細胞へ移植前に血管を付帯させた“血管化膵島”を開発し、将来の臨床応用に向けて、その有効性、安全性を検証する。血管化膵島は無処置の膵島と同等以上のインスリン分泌能があることと、移植実験において極めて早期に血流が回復することが期待され、その結果、無処置の膵島移植に比べて多くが生着に成功し、糖尿病マウスの耐糖能が劇的に改善すると考えられる。本研究を通じて作成された血管化膵島の有用性が証明される。

3. 研究の方法

血管化膵島は、マウス膵島、血管新生促進と細胞保護効果のある間葉系幹細胞、血管の材料である血管内皮細胞をともに共培養することにより作成する。機能面における有効性が確認できれば、iPS 細胞由来膵島細胞を用いた血管化膵島を作成する。血管化膵島の機能評価は、グルコース負荷に対する応答性、糖尿病マウスに対する移植実験によって行う。

4. 研究成果

研究の主な成果

(1) マウス膵島による血管化膵島の作成：雄性 BALB/c マウス膵臓より膵島を分離抽出した。これにマウス間葉系幹細胞、ヒト臍帯静脈内皮細胞をトランスウェル上で培養し、血管化膵島を作成した。作成された血管化膵島シートに血管用の構造を確認できた (図1)。また、この血管化膵島シートを糖尿病マウスの腹腔内脂肪に同種同系移植し、膵島単独移植と同等の移植効果を発揮することも明らかになった (図2)。

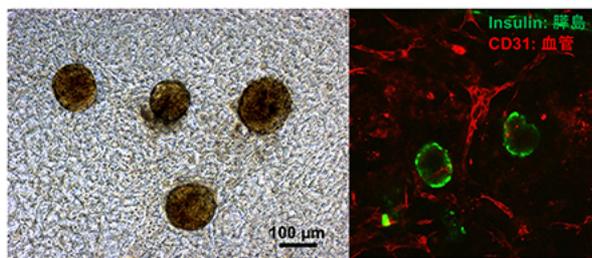


図1. 作成された血管化膵島シート(左)。膵島周囲(緑)に血管様構造(赤)が認められた

(2) iPS 細胞由来膵島細胞の機能評価：iPS 細胞由来膵島細胞として DefPANC (DefiniGEN, Cambridge, UK)を使用した。これまでの検証で、DefPANC はグルコース負荷に対するインスリン分泌能を有し、また、糖尿病マウスへの移植において、ほぼ正常化レベルに達するまでの血糖降下作用を確認している (図3)。この結果を受け、iPS 細胞由来膵島細胞を使用した血管化膵島の作成を目指した。その第一段階として、iPS 細胞由来膵島細胞を細胞集塊化した (図4)。今後、iPS 細胞由来膵島細胞による血管化膵島作成を進めていく予定である。

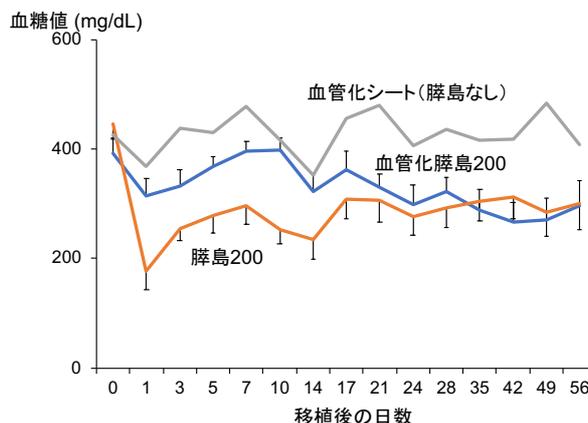


図2. 血管化膵島移植は膵島単独移植と同等の移植効果を発揮した

(3) 得られた成果の国内外におけ

る位置付けとインパクト、今後の展望：移植組織に血管を付帯させて臓器としての特性を導き出す、いわゆる血管化組織の開発は、横浜市立大学谷口英樹教授の研究グループが中心となり主に本邦で進められている。近年ではヒト膵島あるいはヒト iPS 細胞由来膵島細胞、ヒト間葉系幹細胞、ヒト臍帯静脈内皮細胞からの完全ヒト由来細胞からなる血管化膵島の作成に成功し、動物実験によってその優れた移植効果を検証している (Takahashi Y, et al. Cell Rep 2018)。我々の研究もその潮流の中に位置付けられるものである。今回は主に動物実験主体の研究であり、血管化膵島の作成と移植実験における移植片の生着、血糖の降下作用という点で一定の成果を挙げたと考えているが、当初目指した iPS 細胞由来膵島による血管化膵島の完成にまでこぎつくことはできなかった。iPS 細胞由来膵島の特性を十分に明らかにし、その上で iPS 細胞由来血管化膵島の完成とその機能評価を達成できればと考えている。本研究が将来的に世に与えるインパクトであるが、今後、iPS 細胞のみならず、ブタなどの大型動物を利用した血管化膵島を実用化することができれば、膵島移植におけるドナー不足の問題が解決すると考えられる。それにより、膵島移植は大きく発展し、重症糖尿病患者に対する有効な治療法として確立されるものと期待される。

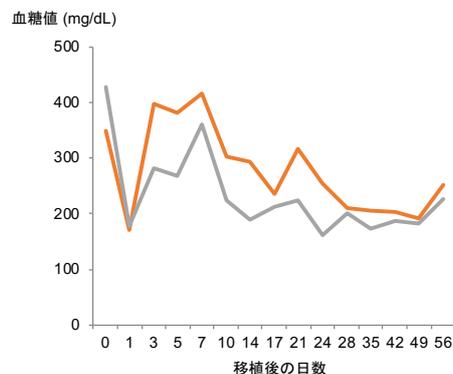


図3. iPS細胞由来膵島細胞の糖尿病マウスへの移植実験。移植後、血糖値は正常化に近づいた

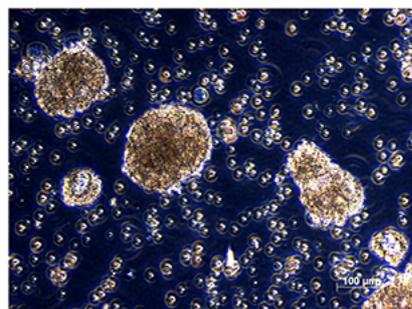


図4. 細胞集塊化したiPS細胞由来膵島細胞

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 20 件)

- ① Naoaki Sakata, Gumpei Yoshimatsu, Shohta Kodama, Islet Autotransplantations for Total Pancreatectomy, OBM Transplantation, 査読有, 2019
DOI: 10.21926/obm.transplant.1902059
- ② Hideaki Sato, Masaharu Ishida, Fuyuhiko Motoi, Naoaki Sakata, Takeshi Aoki, Hideyuki Suzuki, Akihiro Yamamura, Hideaki Karasawa, Tatsuo Hata, Hideo Ohtsuka, Masamichi Mizuma, Takanori Morikawa, Hiroki Hayashi, Kei Nakagawa, Takashi Kamei, Takeshi Naitoh, Shinichi Egawa, Michiaki Unno, Combination of longitudinal pancreaticojejunostomy with coring-out of the pancreatic head (Frey procedure) and distal pancreatectomy for chronic pancreatitis, Surg Today, 査読有, Vol.49, No.2, 2019, 137-142
DOI: 10.1007/s00595-018-1720-1
- ③ Hiroyuki Takahashi, Naoaki Sakata, Gumpei Yoshimatsu, Suguru Hasegawa, Shohta Kodama, Regenerative and Transplantation Medicine: Cellular Therapy Using Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stromal Cells for Type 1 Diabetes Mellitus, J Clin Med, 査読有, Vol.8, No.2, 2019, pii: E249-
DOI: 10.3390/jcm8020249
- ④ 坂田直昭, 吉松 軍平, 小玉 正太, 【膵全摘術を考える】膵全摘術における自家膵島移植と膵臓移植、胆と膵、査読有、40巻、1号、2019、87-92
- ⑤ Akiko Mori, Kunihiro Masuda, Hideo Ohtsuka, Masahiro Shijo, Kyohei Ariake, Koji Fukase, Naoaki Sakata, Masamichi Mizuma, Takanori Morikawa, Hiroki Hayashi, Kei Nakagawa, Fuyuhiko Motoi, Takeshi Naitoh, Fuminori Fujishima, Michiaki Unno, FBXW7 modulates malignant potential and cisplatin-induced apoptosis in cholangiocarcinoma through NOTCH1 and MCL1, Cancer Sci, 査読有, Vol.109, No.12, 2018, 3883-3895
DOI: 10.1111/cas.13829
- ⑥ Kentaro Ishii, Masaharu Ishida, Norihiro Sugisawa, Megumi Murakami, Tomoyuki Ono, Tomoyoshi Tachibana, Hirofumi Imoto, Takeshi Aoki, Katsuyoshi Kudoh, Shinobu Ohnuma, Naoaki Sakata, Hiroaki Musha, Takanori Morikawa, Fuyuhiko Motoi, Takashi Kamei, Takeshi Naitoh, Michiaki Unno, Lymph nodes around the posterior gastric artery: their existence, frequency, and clinical implications, Surg Today, 査読有, Vol.48, No.10, 2018, 916-920

DOI: 10.1007/s00595-018-1677-0

- ⑦ Naoaki Sakata, Gumpei Yoshimatsu, Shohta Kodama, The Spleen as an Optimal Site for Islet Transplantation and a Source of Mesenchymal Stem Cells, *Int J Mol Sci*, 査読有, Vol.19, No.5, 2018, pii: E1391-
DOI: 10.3390/ijms19051391
- ⑧ Mitsuhiro Shimura, Masamichi Mizuma, Tatsuyuki Takadate, Yasutake Katoh, Takashi Suzuki, Masahiro Iseki, Tatsuo Hata, Shuichi Aoki, Yukie Suzuki, Naoaki Sakata, Hideo Ohtsuka, Hiroki Hayashi, Takanori Morikawa, Kei Nakagawa, Fuyuhiko Motoi, Takeshi Naitoh, Kazuhiko Igarashi, Hironobu Sasano, Michiaki Unno, A novel liver metastasis-correlated protein of pancreatic neuroendocrine neoplasm (PanNEN) discovered by proteomic analysis, *Oncotarget*, 査読有, Vol.9, No.36, 2018, 24291-24303
10.18632/oncotarget.25110
- ⑨ 初沢悠人、水間正道、元井冬彦、畠 達夫、伊関雅裕、高館達之、大塚英郎、坂田直昭、森川孝則、中川 圭、林 洋毅、内藤 剛、菅野 敦、下瀬川徹、海野倫明、2年間の化学療法でDown-Stagingし根治切除を施行した腹膜転移を伴う膵頭部癌の1例、癌と化学療法、査読有、45巻、2号、2018、347-349
- ⑩ 元井冬彦、高館達之、前田晋平、有明恭平、益田邦洋、青木 豪、石田晶玄、深瀬耕二、水間正道、坂田直昭、大塚英郎、森川孝則、林 洋毅、中川 圭、内藤 剛、江川新一、海野倫明、【Borderline resectable 膵癌に対する集学的治療】 Borderline resectable 膵癌に対する治療前PET SUVmax値を用いた層別化:術前治療の適応に関する考察、癌の臨床、査読無、63巻、5号、2018、397-403
- ⑪ Masaharu Ishida, Naoaki Sakata, Ichiro Ise, Tomoyuki Ono, Mitsuhiro Shimura, Kentaro Ishii, Megumi Murakami, Tatsuyuki Takadate, Takeshi Aoki, Katsuyoshi Kudo, Shinobu Ohnuma, Koji Fukase, Hideo Ohtsuka, Masamichi Mizuma, Hiroki Hayashi, Kei Nakagawa, Takanori Morikawa, Fuyuhiko Motoi, Takeshi Naitoh, Michiaki Unno, The comparative anatomy of the folds, fossas, and adhesions around the duodenojejunal flexure in mammals, *Folia Morphol (Warsz)*, 査読有, Vol.77, No.2, 2018, 286-292
DOI: 10.5603/FM.a2017.0089
- ⑫ Mitsuhiro Shimura, Masamichi Mizuma, Hiroki Hayashi, Akiko Mori, Tomoyoshi Tachibana, Tatsuo Hata, Masahiro Iseki, Tatsuyuki Takadate, Kyohei Ariake, Shimpei Maeda, Hideo Ohtsuka, Naoaki Sakata, Takanori Morikawa, Kei Nakagawa, Takeshi Naitoh, Takashi Kamei, Fuyuhiko Motoi, Michiaki Unno, A long-term survival case treated with conversion surgery following chemotherapy after diagnostic metastasectomy for pancreatic cancer with synchronous liver metastasis, *Surg Case Rep*, 査読有, Vol.3, No.1, 2017, 132-
DOI: 10.1186/s40792-017-0409-9
- ⑬ Naoaki Sakata, Yohko Yamaguchi, Yu Chen, Masayuki Shimoda, Gumpei Yoshimatsu, Michiaki Unno, Shoichiro Sumi, Rieko Ohki, Pleckstrin homology-like domain family A, member 3 (PHLDA3) deficiency improves islets engraftment through the suppression of hypoxic damage, *PLoS One*, 査読有, Vol.12, No.11, 2017, e0187927-
DOI: 10.1371/journal.pone.0187927
- ⑭ 客本ゆきえ、高館達之、水間正道、畠 達夫、伊関雅裕、大塚英郎、坂田直昭、中川 圭、森川孝則、林 洋毅、元井冬彦、内藤 剛、菅野 敦、下瀬川徹、海野倫明、腹膜転移を有する膵頭部癌に対してAdjuvant Surgeryを企図し切除し得た1例、癌と化学療法、査読有、44巻、12号、2017、1880-1882
- ⑮ 元井冬彦、高館達之、前田晋平、有明恭平、益田邦洋、石田晶玄、深瀬耕二、水間正道、大塚英郎、坂田直昭、林 洋毅、中川 圭、森川孝則、内藤 剛、海野倫明、切除不能膵癌に対するGemcitabine+ Nab-Paclitaxel療法を用いた集学的治療、癌と化学療法、査読有、44巻、12号、2017、1241-1244
- ⑯ 客本ゆき恵、水間正道、石田晶玄、橘 知睦、伊関雅裕、高館達之、阿部友哉、大塚英郎、坂田直昭、森川孝則、中川 圭、林 洋毅、元井冬彦、内藤 剛、佐藤聡子、藤島史喜、菅野 敦、下瀬川徹、海野倫明、自然破裂により発症した膵粘液性嚢胞腫瘍の1例、膵臓、査読有、32巻、4号、2017、767-774
- ⑰ Hideaki Sato, Masaharu Ishida, Fuyuhiko Motoi, Naoaki Sakata, Takeshi Aoki, Katsuyoshi Kudoh, Hideo Ohtsuka, Masamichi Mizuma, Takanori Morikawa, Hiroki Hayashi, Kei Nakagawa, Takeshi Naitoh, Shinich Egawa, Michiaki Unno, Frey's procedure for chronic pancreatitis improves the nutritional status of these patients, *Surg Today*, 査読有, Vol.48, No.1, 2017, 80-86
DOI: 10.1007/s00595-017-1557-z
- ⑱ 坂田直昭、海野倫明、胆管炎の移植膵島に対する影響とそのメカニズム、胆膵の病態生理、査読有、33巻、1号、2017、25-28
- ⑲ 元井冬彦、伊関雅裕、有明恭平、高館達之、前田晋平、益田邦洋、石田晶玄、深瀬耕二、

水間正道、大塚英郎、坂田直昭、林 洋毅、森川孝則、中川 圭、内藤 剛、海野倫明、【胆膵腫瘍に対する術前治療と切除前後の効果判定法】 切除企図膵癌に対する術前治療と効果判定・有効性評価、胆と膵、査読有、38 巻、5 号、2017、471-479

- ⑳ 大塚英郎、森川孝則、水間正道、坂田直昭、中川 圭、林 洋毅、元井冬彦、内藤 剛、海野倫明、【先天性胆道拡張症の最前線】 先天性胆道拡張症術後の肝内結石、胆と膵、査読有、38 巻、4 号、2017、401-406

〔学会発表〕(計 18 件)

- ① 慢性膵炎に対する膵全摘術+自家膵島移植に関する提言、2019 年、第 46 回日本膵・膵島移植研究会、坂田直昭、吉松軍平、小玉正太
- ② 精巣上体周囲脂肪組織被覆膵島移植より腹腔内膵島移植の概念を考える、2019 年、第 46 回日本膵・膵島移植研究会、坂田直昭、吉松軍平、小玉正太
- ③ IP-10 をターゲットとした門脈内膵島移植における自然免疫反応の制御、2019 年、第 46 回日本膵・膵島移植研究会、吉松軍平、山田哲平、坂田直昭、Michael C. Lawrence、Bashoo Naziruddin、海野倫明、小玉正太
- ④ 移植膵島を同定するための画像検査について、2019 年、第 18 回日本再生医療学会総会、坂田直昭、吉松軍平、小玉正太
- ⑤ 当講座における膵島移植研究、2019 年、再生医学研究所 平成 30 年度研究報告会 第 5 回再生医学研究セミナー、坂田直昭
- ⑥ Intraperitoneal Islet Transplantation by Rolling-up Method Using Epididymal Adipose Tissue, 2019 年、The 1st Congress of APITA (Asian Pancreas and Islet Transplant Association), Naoaki Sakata, Gumpei Yoshimatsu, Shohta Kodama
- ⑦ Cooperation among the donor coordinators, islet transplant facilities, and transplant associations for pancreas or islet is necessary to promote the islet transplantation, 2019 年、The 1st Congress of APITA (Asian Pancreas and Islet Transplant Association), Ayana Esaki, Naomi Iyama, Gumpei Yoshimatsu, Naoaki Sakata, Shohta Kodama
- ⑧ The impact of islet purity on metabolic outcome after islet transplantation into portal vein, 2019 年、The 1st Congress of APITA (Asian Pancreas and Islet Transplant Association), Gumpei Yoshimatsu, Teppei Yamada, Naoaki Sakata, Shohta Kodama
- ⑨ 膵島移植とその現状、2018 年、Fukuoka Diabetes Academy 2018、坂田直昭
- ⑩ 異種膵島移植の今後の展望について、2018 年、第 54 回日本移植学会総会、小玉正太、坂田直昭、吉松軍平、高橋宏幸、松岡泰祐、山田英明
- ⑪ 膵切除後脂肪肝の基礎的・臨床的検討、2018 年、第 104 回日本消化器病学会総会、石田晶玄、坂田直昭、海野倫明
- ⑫ 重症急性胆嚢炎の治療戦略、2018 年、第 118 回日本外科学会定期学術集会、大塚英郎、森川孝則、畠 達夫、伊関雅裕、有明恭平、高館達之、益田邦洋、石田晶玄、深瀬 耕二、水間正道、坂田直昭、中川 圭、林 洋毅、武者宏昭、元井冬彦、石田孝宣、亀井 尚、内藤 剛、海野倫明
- ⑬ 膵神経内分泌腫瘍の WHO2017 分類における NET-G3 と NEC-G3 の比較検討、2018 年、第 118 回日本外科学会定期学術集会、青木 豪、大塚英郎、畠 達夫、伊関雅裕、有明恭平、益田邦洋、石田晶玄、深瀬耕二、水間正道、坂田直昭、森川孝則、林 洋毅、中川 圭、江川新一、元井冬彦、石田孝宣、内藤 剛、亀井 尚、海野倫明
- ⑭ 切除不能膵癌に対する Conversion Surgery (CS) の適応：無再発生存期間の目標設定に基づく CS 実施基準の再考、2018 年、第 118 回日本外科学会定期学術集会、元井冬彦、畠 達夫、伊関雅裕、高館達之、有明恭平、川口 桂、益田邦洋、青木 豪、石田晶玄、深瀬耕二、水間正道、坂田直昭、大塚英郎、森川孝則、林 洋毅、中川 圭、江川新一、内藤 剛、石田孝宣、亀井 尚、海野倫明
- ⑮ 腹腔動脈接触角度と術前治療有無からみた、当科 DP-CAR 症例の予後の検討、2018 年、第 118 回日本外科学会定期学術集会、林 洋毅、元井冬彦、水間正道、有明恭平、畠 達夫、高館達之、伊関雅裕、益田邦洋、石田晶玄、深瀬耕二、大塚英郎、坂田直昭、中川 圭、森川孝則、石田孝宣、亀井 尚、内藤 剛、海野倫明
- ⑯ 新分類 (type1, type2) による胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB) 切除例の検討、2018 年、第 118 回日本外科学会定期学術集会、水間正道、青木泰孝、畠 達夫、伊関雅裕、高館達之、有明恭平、益田邦洋、石田晶玄、深瀬耕二、大塚英郎、坂田直昭、中川 圭、林 洋毅、森川孝則、元井冬彦、内藤 剛、亀井 尚、石田孝宣、古川 徹、海野倫明
- ⑰ Lateral pancreatico-jejunostomy、2018 年、第 118 回日本外科学会定期学術集会、石田晶玄、元井冬彦、畠 達夫、伊関雅裕、高館達之、有明恭平、益田邦洋、青木 豪、大沼忍、深瀬耕二、水間正道、大塚英郎、坂田直昭、林 洋毅、中川 圭、武者宏昭、森川孝則、石田孝宣、亀井 尚、内藤 剛、海野倫明
- ⑱ 膵島移植における PHLDA3 欠損膵島の機能解明、2018 年、第 17 回再生医療学会総会、坂田直昭、山口陽子、チン ヨ、吉松軍平、小玉正太、角昭一郎、大木理恵子

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）