

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008 ~ 2010

課題番号：20390337

研究課題名 (和文) 膵島移植の成績向上による低侵襲糖尿病治療法の確立

研究課題名 (英文) Establishment of minimally invasive cell therapy for diabetes by improving the outcome of pancreatic islet transplantation

研究代表者 後藤 昌史 (GOTO MASAFUMI)

東北大学・未来科学技術共同研究センター・教授

研究者番号：50400453

研究成果の概要 (和文)：

本研究により、臓器摘出過程における脳死状態が、膵島分離における温阻血障害と相乗して分離膵島が発現する炎症性メディエーターを増強する事が判明した。また、移植部位である肝内の好中球が発現する組織因子を制御することにより、C5a 阻害ペプチドが凝固系と補体系のクロストークを制御し、その結果グラフト生着を促進する事を見出した。さらにイソフルレンや移植後の短期絶食による resting プロトコールが、グラフト生着促進に有用である事を見出す事ができた。

研究成果の概要 (英文)：

In the present study, we have clarified that brain death in combination with warm ischemic stress during isolation procedures induces a high expression of inflammatory mediators in isolated islets. We also found that C5a inhibitory peptide attenuates cross-talk between the complement and coagulation cascades through suppressing up-regulation of tissue factor expression on leukocytes in recipient livers, a process leading to improvement in islet engraftment. This was a new concept to improve the outcome of islet transplantation. We also showed that isoflurane and short-term fasting combined with insulin treatment could be a promising regimen for improving islet engraftment in the liver.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2009 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2010 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

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：移植・再生医療, 糖尿病, 細胞・組織, 膵島

1. 研究開始当初の背景

膵島移植は細胞療法という最先端医療技術の中でも、最も社会的なインパクトの大きい糖尿病根治療法である。膵島移植はこれまで主流であった膵臓移植に比し、安全・簡便・低侵襲といった多くの利点を備えた患者に優しい画期的治療法であるため、欧米の一部では既に保険適応となっている。しかし、一人の患者の治療に複数ドナーを要するという致命的課題を有しているため、ドナー不足が深刻な本邦においては一般医療に至っていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究においては、我々のこれまでの移植後早期グラフト障害に関する詳細な研究成果に基づき、分子生物学・免疫学・移植外科学・内分泌学の最新知見を革新的に融合させ、独創的な着眼に基づく多角的アプローチの導入により膵島グラフトの生着促進を試み、膵島移植を糖尿病に対する理想的低侵襲治療法として確立する事を目的としている。

3. 研究の方法

本研究においては、申請者等のこれまでの研究成果に基づき、膵島の質に強い影響を及ぼす工程に着眼し、各分野のエキスパートの最新知見を革新的に融合させ、これまでにないユニークな視点から以下のような独創的な改善策を提案し、その学術的検証を行った。

- (1) 膵島自身が産生する炎症性メディエーターの制御によるグラフトの質の向上
- (2) 補体阻害ペプチド導入による、副作用を伴わない早期グラフト障害の制御
- (3) イソフルレン導入による膵島グラフトの

肝内リモデリング促進

- (4) 血管新生完了までの膵島グラフトの保護プロトコールの導入

4. 研究成果

本研究は、各年度ごとに上記テーマを割当て、小動物モデルおよび大動物モデルを使用し、集中的に検証を実施した。いずれもほぼ計画通りに進行し、予想以上の結果を得る事ができ、一部の成果に関しては現在臨床応用を計画しているところである。以下に各テーマ毎に研究成果の概要を記載する。

- (1) 膵島自身が産生する炎症性メディエーターの制御によるグラフトの質の向上

膵島自身が産生する炎症性メディエーターの制御によるグラフトの質の向上を目指し研究を行った。その結果、膵島はまず脳死ストレスにより炎症起因性メディエーターの放出が促されることが判明した (*Cell Transplantation* 報告済み)。それを有効に制御し得る臨床応用が望める抗炎症剤として、ニコチン酸アミドや C5a 阻害ペプチドを見出す事に成功した。

- (2) 補体阻害ペプチド導入による、副作用を伴わない早期グラフト障害の制御

まず補体阻害ペプチド導入による、副作用を伴わない早期グラフト障害の制御に関し研究を行った。その結果、膵島移植後、補体の key factor である C5a がホストの好中球における C5a レセプターと結合することにより、凝固活性のイニシエーターである組織因子が活性化され、移植グラフト近傍での凝固活性の更新が引き起こされ激しいグラフト障害が惹起されることが判明した。また、それらの反応は、C5a 阻害ペプチドの導入により効果的に制御し得ることも併せて判明した

(*Transplantation* 報告済み)。今後、本知見を臨床応用へ繋げていくため、前臨床モデルである大動物を使用し検討を継続していく予定である。

(3) イソフルレン導入による膵島グラフトの肝内リモデリング促進

イソフルレン導入による膵島グラフトの肝内リモデリング促進効果について検証を行った。その結果、イソフルレンが有する強力な抗炎症作用および門脈拡張作用が相乗的に移植膵島グラフトの生着を促進する事が明らかとなった(第46回日本移植学会報告済み、論文作成中)。また、イソフルレンは、移植部位である肝組織の虚血性障害を制御する作用も有している事が判明し、合目的であると考えられた。

(4) 血管新生完了までの膵島グラフトの保護プロトコールの導入

膵島移植後、血管新生完了までの約10日間における膵島グラフトの保護を目的としたグラフトresting効果について検証を行った。その結果、インスリン強化療法と短期間絶食によるグラフト負荷の軽減を組み合わせた新規restingプロトコールは、強いグラフト保護効果を示す事が判明した(第38回日本膵膵島移植研究会報告済み、論文作成中)。

上記の全ての手法は、いずれも臨床応用が可能であり、一回の移植において十分なグラフト量の確保が困難である膵島移植において、成績向上をもたらす有用な手法になり得る事が明らかとなった。

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 23 件)

1. Quantification of the islet product: Presentation of a standardized current Good Manufacturing Practices compliant

system with minimal variability
Friberg A, Brandhorst H, Buchwald P, **Goto M**, Ricordi C, Brandhorst D, Korsgren O 査読有
Transplantation 91:677-683:2011

2. Attenuation of cross-talk between the complement and coagulation cascades by C5a blockade improves early outcomes after intraportal islet transplantation
Tokodai K, **Goto M**, Inagaki A, Nakanishi W, Ogawa N, Satoh K, Kawagishi N, Sekiguchi S, Nilsson B, Okada N, **Okada H**, **Satomi S** 査読有
Transplantation 90 (12):1358-1365:2010

3. The impact of ischemic stress on the quality of isolated pancreatic islets
Goto M, Imura T, Inagaki A, Ogawa N, Yamaya H, Fujimori K, Kurokawa Y, **Satomi S** 査読有
Transplantation Proc. 42(6):2040-2042:2010

4. C5a-Inhibitory peptide combined with gabexate mesilate prevents the Instant Blood-Mediated Inflammatory Reaction in a rat model of islet transplantation
Tokodai K, **Goto M**, Inagaki A, Nakanishi W, Okada N, **Okada H**, **Satomi S** 査読有
Transplantation Proc. 42 (6):2102-2103:2010

5. Brain death in combination with warm ischemic stress during isolation procedures induces the expression of crucial inflammatory mediators in the isolated islets
Saito Y, **Goto M**, Maya K, Ogawa N, Fujimori K, Kurokawa Y, **Satomi S** 査読有
Cell Transplantation 19(6):775-782:2010

6. 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** 査読有
Transplantation Proc. 41 (1):311-313:2009

7. The influence of brain death on tissue factor expression in the pancreatic tissues and isolated islets in rats

- Saito Y, **Goto M**, Maya K, Ogawa N, Fujimori K, Kurokawa Y, **Satomi S**
査読有 *Transplantation Proc.* 41 (1):307-310:2009
8. Superiority of fresh islets compared with cultured islets
Takahashi H, **Goto M**, Ogawa N, Saito Y, Fujimori K, Kurokawa Y, Doi H, **Satomi S** 査読有
Transplantation Proc. 41 (1):350-351:2009
9. 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** 査読有
Transplantation Proc. 41 (1):67-68:2009
10. How Much of the Pancreatic Head Should We Resect in Frey's Procedure?
Sakata N, Egawa S, Motoi F, **Goto M**, Matsuno S, Katayose Y, Unno M 査読有
Surg Today 39:120-127:2009
11. 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 査読有
Xenotransplantation 15(4):225-234:2008
12. 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** 査読有
Transplantation Proc. 40(2):411-412:2008
13. 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** 査読有
Transplantation Proc. 40(2):358-359:2008
14. Institutional indications for islet transplantation after total pancreatectomy
Sakata N, Egawa S, Motoi F, Mikami Y, Ishida M, Aoki T, Ottomo S, Fukuyama S, Rikiyama T, Katayose Y, **Goto M**, Unno M 査読有
J Hepatobiliary Pancreat Surg 15(5):488-492:2008
15. 膵島移植の現状と課題
後藤昌史
査読有 総合臨床 *in press 2011*
16. C5a阻害による補体系・凝固系のcross-talkの抑制を介した移植後早期膵島障害の制御
戸子台和哲, **後藤昌史**, 稲垣明子, 中西 渉, 小川則彦, 佐藤和重, 川岸直樹, 関口 悟, Bo Nilsson, 岡田則子, **岡田秀親**, **里見 進**
査読有 移植 *in press 2011*
17. 膵島移植の現状
後藤昌史
査読有 臨床医のための循環器診療 *in press 2011*
18. 吸入麻酔イソフルランが膵島移植に及ぼす影響
山谷英之, **後藤昌史**, Feng Zhaoqiang, 猪村武弘, 小林英司, **里見 進**
査読有 移植 *in press 2011*
19. MRIを用いた移植膵島の生着評価法
坂田直昭, **後藤昌史**, 江川新一, 海野倫明
査読有 膵臓 *in press 2011*
20. ここまで進んだ膵島移植
後藤昌史
査読有 糖尿病診療マスター: 8(2):203-207:2010
21. ラット膵島移植モデルにおける移植前培養膵島に対する新鮮膵島の優位性の検証
高橋英幸, **後藤昌史**, 小川則彦, 藤盛啓成, 黒川良望, 土井秀之, **里見 進**
査読有 移植:44 (1):82-90:2009
22. 膵島移植の現状と展望
後藤昌史 査読有
最新医学:64 (2):45-52:2009
23. Low molecular weight dextran

sulfate導入が引き起こす移植後膵島
グラフト生着促進による、一型糖尿病
根治療法としての膵島移植の確立
後藤昌史 査読有
臨床薬理の進歩:29:206-214:2008

[学会発表] (計 18 件)

1. 臍動静脈奇形に起因する急性腹膜炎に対し
グラフト保護プロトコルの導入により
良好な結果を得た自家膵島移植症例の
報告
後藤昌史、坂田直昭、山谷英之、元井冬彦
、山口 賢、猪村武弘、稲垣明子、伊藤経
夫、林 洋毅、石垣 泰、片桐秀樹、長谷
川 豊、澤田正二郎、廣田衛久、下瀬川 徹
、関口 悟、藤盛啓成、江川新一、海野倫
明、**里見 進**
第38回膵膵島移植研究会
2011, Mar 5 奈良
2. A Study on the Influence and Control of
Ischemic Stress during Pancreas
Preservation on Isolated Islets
Feng Zhaoqiang, **Masafumi Goto**, Takehiro
Imura, Akiko Inagaki, Hideyuki Yamaya,
Yoshimochi Kurokawa, Satoshi Sekiguchi,
Keisei Fujimori, Junji Yodoi, **Susumu
Satomi**
第38回膵膵島移植研究会
2011, Mar 5 奈良
3. イソフルランが膵島移植に及ぼす影響
山谷英之、**後藤昌史**、Feng Qiang、猪村武弘
、末田輝子、小林英司、関口 悟、藤盛啓成
、**里見 進**
第38回膵膵島移植研究会
2011, Mar 5 奈良
4. Thioredoxin-1による移植後早期膵島障害
の抑制
阿佐美健吾、**後藤昌史**、猪村武弘、稲垣明子
、関口 悟、藤盛啓成、淀井淳司、**里見 進**
第38回膵膵島移植研究会
2011, Mar 5 奈良
5. インスリン及び中心静脈栄養による
restingが膵島移植後のグラフト生着へ及ぼ
す影響
神保琢也、**後藤昌史**、猪村武弘、関口 悟、
藤盛啓成、**里見 進**
第38回膵膵島移植研究会
2011, Mar 5 奈良
6. 膵島を含有するシート作製方法の検討
稲垣明子、**後藤昌史**、大橋一夫、**里見 進**
第10回日本再生医療学会

2011, Mar 1 東京

7. 膵島移植の現状と今後の展望

後藤昌史

第13回近畿膵移植検討会 (招待講演)

2010, Dec 4, 大阪

8. 膵島分離におけるTLA活性の意義に関する
検討

後藤昌史、山形洋平、渡邊君子、村山和隆、
猪村武弘、稲垣明子、山谷英之、黒川良望、
里見 進

第37回日本臓器保存生物医学学会

2010, Nov 20、新潟

9. 過冷却状態が膵組織保存へ及ぼす影響に
関する検討

猪村武弘、**後藤昌史**、藤井和博、大和田哲男
、黒川良望、**里見 進**

第37回日本臓器保存生物医学学会

2010, Nov 20、新潟

10. イソフルランが膵島移植に及ぼす影響

山谷英之、**後藤昌史**、Feng Zhaoqiang、猪村
武弘、末田輝子、**里見 進**

第37回日本臓器保存生物医学学会

2010, Nov 20、新潟

11. Impact of ischemic stress on the
quality of isolated islets

Feng Zhaoqiang, **Masafumi Goto**, Takehiro
Imura, Akiko Inagaki, Hideyuki Yamaya,
Yoshimochi Kurokawa, Junji Yodoi, **Susumu**

Satomi

第37回日本臓器保存生物医学学会

2010, Nov 20、新潟

12. イソフルランが膵島移植におけるグラフ
ト生着へ及ぼす影響に関する検討

山谷英之、**後藤昌史**、Feng Qiang、猪村武弘
、末田輝子、**里見 進**

第46回日本移植学会

2010, Oct 21, 京都

13. **Masafumi Goto**, Youhei Yamagata, Kimiko
Watanabe, Kazutaka Murayama, Takehiro Imura,
Akiko Inagaki, Hideyuki Yamaya, Keisei

Fujimori, Yoshimochi Kurokawa, **Susumu**

Satomi

No Need of Tryptic-like Activity for Successful
Porcine Islet Isolation

2010 XXIII International Congress Of The
Transplantation Society

2010, Aug 16, Canada, Vancouver

14. Kazuaki Tokodai, **Masafumi Goto**, Akiko

Inagaki, Wataru Nakanishi, Noriko Okada,

Hidechika Okada, Susumu Satomi
Interruption of a cross-talk between the complement and coagulation cascades improves early outcomes after intraportal islet transplantation
2010 XXIII International Congress Of The Transplantation Society
2010, Aug 16, Canada, Vancouver

15. 移植後早期膵島障害の抑制を目的とした新規プロトコルの有効性の評価および作用機序の解明
戸子台和哲、後藤昌史、稲垣明子、中西 涉、岡田則子、岡田秀親、里見 進
第 37 回膵膵島移植研究会
2010, Mar 13 宇都宮

16. 長期冷保存を伴う膵島移植を対象とした臓器保存溶液に関する検討
猪村武弘、後藤昌史、藤盛啓成、黒川良望、里見 進
第 37 回膵膵島移植研究会
2010, Mar 13 宇都宮

17. A STRONG CANDIDATE APPROACH TO PREVENT THE INSTANT BLOOD-MEDIATED INFLAMMATORY REACTION IN CLINICAL ISLET TRANSPLANTATION
Kazuaki Tokodai, Masafumi Goto, Akiko Inagaki, Wataru Nakanishi, Noriko Okada, Hidechika Okada, Susumu Satomi
2009 International Pancreas and Islet Transplant Association
2009, Oct 13, Italy, Venice,

18. Potency tests for assessing the quality of isolated pancreatic islets
Masafumi Goto
The 10th Cell Transplant Society Congress (招待講演)
2009, April 20, Okayama

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

とくになし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 昌史 (GOTO MASAFUMI)

東北大学・未来科学技術共同研究センタ

一・教授

研究者番号：50400453

(2) 研究分担者

里見 進 (SATOMI SUSUMU)

東北大学・病院・教授

研究者番号：00154120

檜尾 好徳 (HINOKIO YOSHINORI)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：10282071

(3) 連携研究者

岡田 秀親 (OKADA HIDECHIKA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・名誉教授

研究者番号：30160683

眞野 喜洋 (MANO YOSHIHIRO)

東京医科歯科大学・大学院保健衛生学研究科・名誉教授

研究者番号：70014339