

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21624

研究課題名（和文）従来の常識を覆す革新的免疫抑制剤開発への挑戦

研究課題名（英文）Challenge to develop a novel immunosuppressant that defies the conventional wisdom

研究代表者

後藤 昌史（Goto, Masafumi）

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50400453

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究においては、現行の標準免疫抑制剤であるカルシニューリン阻害剤に依存しない、新たなプロトコルの樹立を目的とし、KRP-203に着目した。その結果、KRP-203はカルシニューリン阻害剤と異なり、移植グラフトに耐糖能障害や新生血管構築阻害を引き起こさないことが明らかとなった。また、ラパマイシンと組み合わせることにより、同種免疫拒絶反応を効果的に制御できる安全かつ有効な免疫抑制剤であることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、副作用が社会的課題となっている現行の標準法であるカルシニューリン阻害剤に依存しない、患者の体や移植グラフトに優しい新たな免疫抑制療法を樹立することができた。本研究の恩恵を最も直接的に享受するのは糖尿病治療を目的とする膵島移植であるが、耐糖能障害がないという観点では膵臓移植も対象となるし、新生血管構築阻害がないという観点では肝細胞移植など多くの細胞移植医療に恩恵をもたらすことが期待される。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we focused on KRP-203 to establish a new immunosuppressive protocol that does not depend on calcineurin inhibitors, which are the current standard immunosuppressants. As a result, unlike calcineurin inhibitors, it was proved that KRP-203 does not induce glucose intolerance or inhibition of neovascularization in transplanted cell grafts. It was also found to be a safe and effective immunosuppressive agent that can effectively control allogeneic immune rejection when combined with rapamycin.

研究分野：移植外科および再生医療

キーワード：免疫抑制剤 膵島移植 KRP-203 FTY720

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

移植医療により不治の病であった患者が救われ、元気に社会復帰していく姿は圧巻であり、21世紀はまさに移植医療全盛の時代である。移植医療は華やかな面ばかり注目されるが、社会にあまり認識されていない深刻な課題こそが生涯に渡る免疫抑制剤の服用である。長期に及ぶ免疫抑制剤の服用は例外なく患者に副作用をもたらし、時には死に至らしめる事も決して稀ではないのが移植医療のもう一つの顔である。さらに近年、申請者を含む多くのグループにより、カルシニューリン阻害剤をベースとする現行の世界標準である免疫抑制剤は患者のみならず移植グラフトにも糖尿病<sup>1</sup>や血管障害<sup>2</sup>など様々な悪影響を及ぼす事が明らかとなり、大きな社会問題と化している。この解決法として期待されているのが、カルシニューリン阻害剤に依存せず患者の体や移植グラフトに優しい新規免疫抑制剤の開発である。

本研究において申請者らが着目した KRP-203 はスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) 受容体アゴニストである。類似の作用機序を有する FTY720 は、腎臓移植や膵島移植において同種拒絶反応を効果的に制御するためその実用化が期待されていたが、徐脈の副作用を引き起こす事が判明し開発中止へと追い込まれた。その後の研究で徐脈は S1P 受容体サブクラス 3 (S1P3) を介し発生する事が判明したが<sup>3</sup>、KRP-203 は FTY720 と異なり S1P1 への選択性が高い新規誘導体であるため、徐脈の副作用を回避できる安全性の高い薬剤である点が大きな魅力である。申請者らは 2003 年に拒絶反応がより激しい異種膵島移植モデルにおいても FTY720 が極めて効果的である事を報告したが<sup>4</sup>、当時はそのメカニズムに関しては全く不明であった。その後、上記作用受容体が明らかとなり、さらに申請者らも移植グラフトの新生血管床を定量化するイメージングシステムの開発に成功し<sup>2</sup>、このシステムの活用により現行のスタンダードであるカルシニューリン阻害剤が移植グラフトの耐糖能障害や新生血管構築阻害<sup>2</sup>を引き起こす事が判明したため、" KRP-203 は FTY720 同様に S1P 受容体を介して胸腺や二次リンパ節からの成熟 T 細胞の移出阻止というユニークな作用機序に基づくため、耐糖能障害や血管障害を生じるとは考え難い" と推定するに至った。

### 2. 研究の目的

本研究においては、カルシニューリン阻害剤と全く異なる作用機序を有する KRP-203 に着目し、この新規物質が (1) 糖尿病を引き起こさない、(2) 血管障害を生じない、(3) カルシニューリン阻害剤と同等以上に免疫拒絶反応を制御できる事を実証し、体や移植グラフトに優しい理想的免疫抑制剤として確立する事を目指す。さらに本研究においてはそれのみに留まらず、KRP-203 は元来強力な抗炎症作用も保持している事を鑑み、(4) 拒絶反応が起こらない同種同系モデルにおいても KRP-203 の服用によりグラフト生着を促進するかどうかについても検証していく。

### 3. 研究の方法

KRP-203 の耐糖能障害に関する検証に関しては、KRP-203 をマウスに 2 週間服用させた後、個体の耐糖能を経腹腔の糖負荷試験 (Kg および AUC 算出) にて評価すると共に、摘出膵臓から分離した膵島の耐糖能に関しても、*in vitro* 糖負荷試験<sup>5</sup>、呼吸活性、インスリン/DNA assay、ADP/ATP ratio assay<sup>6</sup> にて併せて評価を実施する。

KRP-203 の新生血管構築阻害に関する検証に関しては、移植グラフトの新生血管床構築能を申請者らがこれまでに樹立してきた高感度イメージングシステム (二光子顕微鏡下でのグラフト周囲新生血管体積量計測)<sup>2</sup> により評価する。

KRP-203 の免疫拒絶反応制御効果に関する検証に関しては、Fully mismatch の同種異系膵島移植モデル (ドナー: BALB/c、レシピエント: C57BL/6) を活用し、カルシニューリン阻害剤を使用せずに免疫拒絶反応を効果的に制御することが可能であるかどうか検証する。

KRP-203 の抗炎症効果に関する検証に関しては、同種同系膵島移植モデル (ドナー: C57BL/6、レシピエント: C57BL/6) を活用し、マージナル dose の膵島グラフト量で治療効果が得られるか

どうかについて検証する。

#### 4. 研究成果

KRP-203 の耐糖能障害に関しては、図 1 および図 2 に示す様に、期待通り KRP-203 が糖尿病を引き起こさない免疫抑制剤であることを実証することができた。

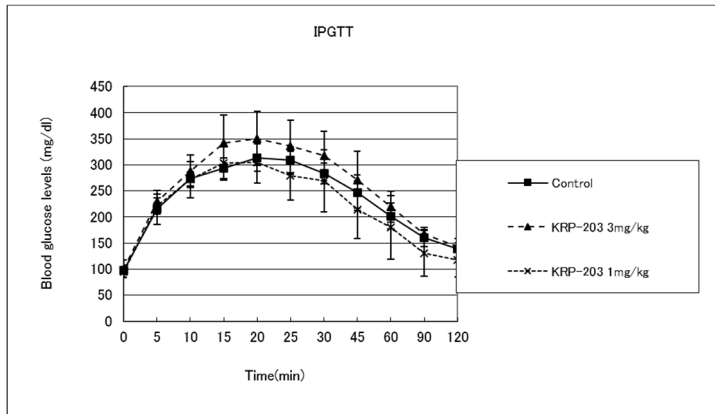


図 1：申請者らの研究成果論文<sup>7</sup>からの引用。高濃度 KRP-203 を 2 週間服用させたマウスにおいても、経腹腔的糖負荷試験による明らかな個体の耐糖能障害は確認されなかった。

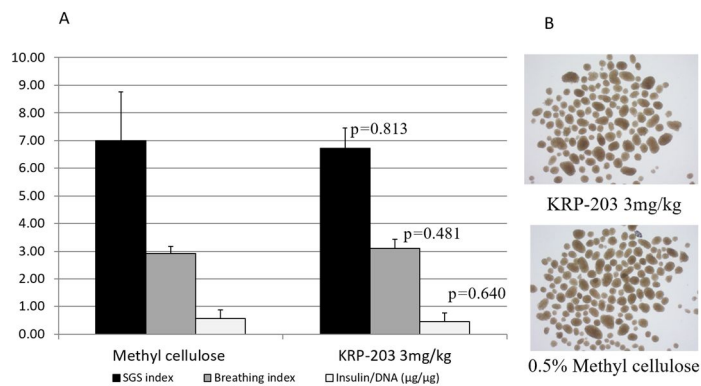


図 2：申請者らの研究成果論文<sup>7</sup>からの引用。高濃度 KRP-203 を 2 週間服用させたマウスの摘出膵臓から分離した膵島の機能評価においても、膵島の耐糖能障害は確認されなかった。尚、Methyl cellulose は KRP-203 の溶解剤であるため、本研究において対照群として用いた。

KRP-203 の新生血管構築阻害に関しても、図 3 および図 4 に示す様に、期待通り KRP-203 が新生血管構築阻害を引き起こさない免疫抑制剤であることを実証することができた。

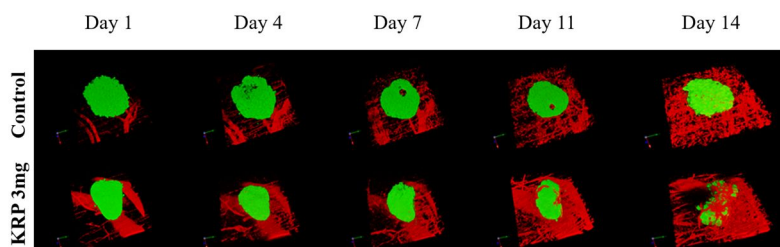


Image acquisition: FluoView FV1000MPE; OLYMPUS, Tokyo, Japan.  
Vascular volume analysis: Volocity 3D system, PerkinElmer, Waltham, MA, USA

図 3：申請者らの研究成果論文<sup>7</sup>からの引用。高濃度 KRP-203 を 2 週間服用させたマウスにおいても、移植膵島グラフト周囲の新生血管構築は阻害されておらず、対照群 (Methyl cellulose を同期間服用) と同等であることが判明した。

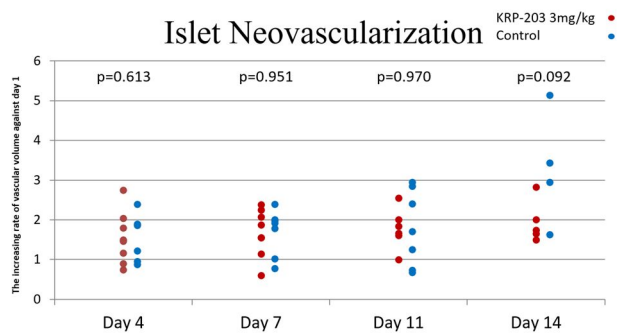


図 4：申請者らの研究成果論文<sup>7</sup>からの引用。図 3 の結果を新生血管量定量化ソフトにより計測し、数値化した上で統計解析を実施した。この結果からも、KRP-203 が移植膵島グラフトの新生血管構築阻害を引き起こさない免疫抑制剤であることがうかがえる。

KRP-203 の免疫拒絶反応制御効果に関しては、図 5 および図 6 に示す様に、同種異系膵島移植実験の実施により、KRP-203 とラパマイシンを組み合わせることにより、カルシニューリン阻害剤と同等以上にグラフトへのリンパ球浸潤を効果的に制御できることを実証することができた。

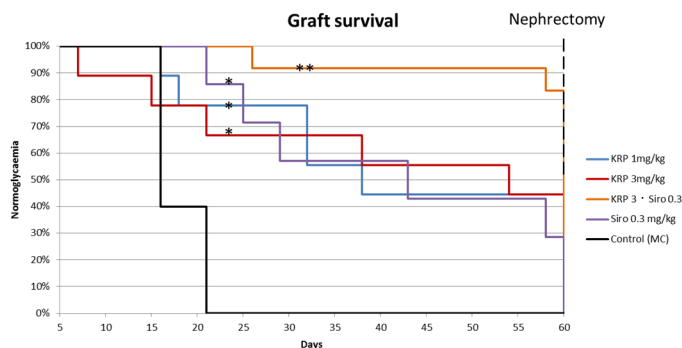


図 5：申請者らの研究成果論文<sup>7</sup>からの引用。高濃度 KRP-203 単独でも約 50%のグラフト生着が確認されたが、ラパマイシンと組み合わせることによりグラフト生着率が 80%を超え、カルシニューリン阻害剤の効果を上回ることが判明した。

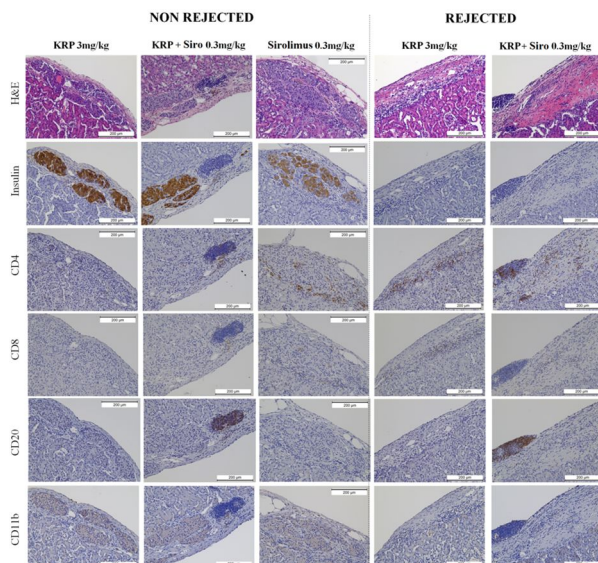


図 6 : 申請者らの研究成果論文<sup>7</sup>からの引用。グラフト生着例においては、KRP-203 単独群でも細胞浸潤を効果的に抑制しグラフト形態を良好に保ち得ることが明らかとなった。

KRP-203 の抗炎症効果に関しては、同種同系経門脈的膵島移植実験の実施により、まずレシピエント体内における KRP-203 の半減期を明らかにすることができた。さらに、これまでの *in vitro* 検証結果を裏打ちするように、薬剤濃度が腸肝循環により高まる門脈内においても、KRP-203 は膵島グラフトへ毒性を及ぼさない極めて安全かつ有効な免疫抑制剤であることを確認することができた。KRP-203 が経門脈的膵島移植後の原始免疫反応へ及ぼす影響に関しては、現在も検討を継続中である。

#### < 引用文献 >

(1)Zhiwei Li, Fei Sun, Yaohui Zhang, Hao Chen, Ningning He, Hui Chen, Penghong Song, Yan Wang, Sheng Yan, Shusen Zheng. Tacrolimus Induces Insulin Resistance and Increases the Glucose Absorption in the Jejunum: A Potential Mechanism of the Diabetogenic Effects.

PLoS One 10(11):2015:e0143405

(2)Nishimura R, Nishioka S, Fujisawa I, Shiku H, Shimada M, Sekiguchi S, Fujimori K, Ushiyama A, Matsue T, Ohuchi N, Satomi S, Goto M. Tacrolimus inhibits the revascularization of isolated pancreatic islets.

PLoS One 8(4):2013:e56799

(3)Takuwa Y, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa N. Sphingosine-1-phosphate signaling and biological activities in the cardiovascular system.

Biochim Biophys Acta 1781(9):2008:483-488

(4)Maeda A, Goto M, Zhang J, Bennet W, Groth CG, Korsgren O, Wennberg L. Immunosuppression with FTY720 and cyclosporine A inhibits rejection of adult porcine islet xenografts in rats.

Transplantation 75(8):2003:1409-1414

(5)Goto M, Eich M. T, Felldin M, Foss A, Kallen R, Salmela K, Tibell A, Tufveson G, Fujimori K, Engkvist M, Korsgren O. Refinement of the automated method for human islet isolation and presentation of a closed system for *in vitro* islet culture

Transplantation 78(9):2004:1367-1375

(6)Goto M, Holgersson J, Kumagai-Braesch M, Korsgren O. The ADP/ATP ratio:A novel predictive assay for quality assessment of isolated pancreatic islets

Am J Transplantation 6(10):2006:2483-2487

(7)Fathi I, Nishimura R, Imura T, Inagaki A, Kanai N, Ushiyama A, Kikuchi M, Maekawa M, Yamaguchi H, Goto M. KRP-203 is a Desirable Immunomodulator for Islet Allotransplantation

Transplantation 106(5):2022:963-972

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Fathi I, Nishimura R, Imura T, Inagaki A, Kanai N, Ushiyama A, Kikuchi M, Maekawa M, Yamaguchi H, Goto M	4. 巻 -
2. 論文標題 KRP-203 is a Desirable Immunomodulator for Islet Allotransplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Transplantation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/TP.0000000000003870	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Imura T, Inagaki A, Igarashi Y, Goto M	4. 巻 16
2. 論文標題 Optimization of dye solutions for detecting damaged pancreatic tissues during islet isolation procedures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0255733
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0255733. eCollection 2021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ogasawara H, Inagaki A, Fathi I, Imura T, Yamana H, Saitoh Y, Matsumura M, Fukuoka K, Miyagi S, Nakamura Y, Ohashi K, Unno M, Kamei T, Goto M	4. 巻 Jan-Dec 30
2. 論文標題 Preferable transplant site for hepatocyte transplantation in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Transplantation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/09636897211040012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fathi I, Imura T, Inagaki A, Nakamura Y, Nabawi A, Goto M	4. 巻 9
2. 論文標題 Decellularized whole-organ pre-vascularization: A novel approach for organogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 756755
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2021.756755. eCollection 2021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Teratani T, Kasahara N, Fujimoto Y, Sakuma Y, Miki A, Goto M, Sata N, Kitayama J	4. 巻 14
2. 論文標題 Mesenchymal stem cells secretions enhanced ATP generation on isolated islets during transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Islets	6. 最初と最後の頁 69-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19382014.2021.2022423.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka M, Tokodai K, Sato M, Yamada S, Okita H, Ito T, Saito M, Hoshiai T, Miyagi S, Miki T, Unno M, Kamei T, Goto M	4. 巻 -
2. 論文標題 Distribution of amniotic epithelial cells after intraportal infusion in a rat model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2021.09.077.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishimaki H, Saitoh Y, Inagaki A, Nakamura Y, Imura T, Fathi I, Yamana H, Ohashi K, Miyagi S, Kamei T, Unno M, Goto M	4. 巻 12
2. 論文標題 Short-term inhalation of isoflurane improves the outcomes of intraportal hepatocyte transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-08237-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inagaki A, Imura T, Nakamura Y, Ohashi K, Goto M	4. 巻 10(4)
2. 論文標題 The liver surface is an attractive transplantation site for pancreatic islet transplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm10040724	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saitoh Y, Inagaki A, Fathi I, Imura T, Nishimaki H, Ogasawara H, Matsumura M, Miyagi S, Yasunami Y, Unno M, Kamei T, Goto M	4. 巻 Jan 23
2. 論文標題 Improvement of hepatocyte engraftment by co-transplantation with pancreatic islets in hepatocyte transplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Tissue Eng Regen Med	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/term.3170	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada S, Miyagi S, Hara Y, Kakizaki Y, Sasajima H, Mitsui K, Fujimori K, Unno M, Kamei T, Goto M	4. 巻 52(6)
2. 論文標題 Effects of Short-Term Normothermic and Subnormothermic Perfusion After Cold Preservation on Liver Transplantation From Donors After Cardiac Death	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transplantation Proc	6. 最初と最後の頁 1639-1642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2020.01.147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasajima H, Miyagi S, Yamada S, Kakizaki Y, Kamei T, Unno M, Goto M	4. 巻 52(6)
2. 論文標題 Cytoprotective Effects of Mesenchymal Stem Cells During Liver Transplantation From Donors After Cardiac Death in Swine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transplantation Proc	6. 最初と最後の頁 1891-1900
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2020.01.165	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tokodai K, Miyagi S, Nakanishi W, Fujio A, Kashiwade T, Goto M, Unno M, Kamei T	4. 巻 Sep 9
2. 論文標題 Effects of re-augmenting maintenance immunosuppression on post-transplant donor-specific HLA antibodies in liver transplantation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transpl Immunology	6. 最初と最後の頁 101334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.trim.2020.101334	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Mitsugashira H, Imura T, Inagaki A, Endo Y, Katano T, Saito R, Miyagi S, Watanabe K, Kamei T, Unno M, Goto M	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of a novel method for measuring tissue oxygen pressure to improve the hypoxic condition in subcutaneous islet transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-19189-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamana H, Inagaki A, Imura T, Nakamura Y, Nishimaki H, Katano T, Ohashi K, Miyagi S, Kamei T, Unno M, Goto M	4. 巻 106
2. 論文標題 Cotransplantation with adipose tissue-derived stem cells improves engraftment of transplanted hepatocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transplantation	6. 最初と最後の頁 1963-1973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/TP.0000000000004130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 後藤昌史
2. 発表標題 膵島移植
3. 学会等名 日本消化器病学会第2回再生医療セミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤昌史
2. 発表標題 幹細胞移植や異種移植などの膵島移植代用治療を促進する細胞デバイスの開発
3. 学会等名 第49回日本膵・膵島移植学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fathi Ibrahim
2. 発表標題 KRP-203 is a Desirable Immunomodulator for Islet Allotransplantation
3. 学会等名 第49回日本膵・膵島移植学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤昌史
2. 発表標題 膵島移植と再生医療のクロストーク
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤昌史
2. 発表標題 移植医療と再生医療の融合がもたらす糖尿病医療の今後の展開
3. 学会等名 第56回日本移植学会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金井 哲史, 稲垣 明子, 中村 保宏, 猪村 武弘, Ibrahim Fathi, 三頭 啓明, 斎藤 竜助, 宮城 重人, 亀井 尚, 海野 倫明, 田畑 泰彦, 後藤 昌史
2. 発表標題 不織布構造ゼラチン基材の導入による経門脈移植を凌駕する革新的皮下膵島移植法の確立
3. 学会等名 第48回日本膵膵島移植研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三頭啓明、猪村武弘、稲垣明子、Fathi Ibrahim、宮城重人、亀井 尚、海野倫明、後藤昌史
2. 発表標題 皮下膵島移植における低酸素環境改善に役立つ新規組織内酸素濃度測定方法の確立
3. 学会等名 第48回日本膵膵島移植研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fathi Ibrahim、猪村武弘、稲垣明子、後藤昌史
2. 発表標題 A Preliminary Study of Decellularized Whole-Organ Pre-vascularization: A Novel Approach for Organogenesis
3. 学会等名 The second Congress of Asian Pancreas and Islet Transplant Association (APITA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤昌史、稲垣明子、渡邊君子
2. 発表標題 安全な再生医療実現へ向けた革新的細胞デバイスの構築
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤昌史
2. 発表標題 膵島移植
3. 学会等名 日本消化器病学会第3回再生医療セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔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	稲垣 明子  (Inagaki Akiiko)  (20360224)	東北大学・医学系研究科・助教   (11301)	

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
---------	---------