

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25870665

研究課題名(和文)膵管細胞を用いた移植膵島生着の誘導：基礎から臨床へ

研究課題名(英文)Development of Islet transplantation with ductal cell

研究代表者

三木 厚(Miki, Atsushi)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：20570378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵島移植は重症型糖尿病の有効な治療法であるが、ドナー不足という課題を有している。膵島細胞は、膵島分離から移植といった一連の医療行為のあいだに、障害を受け、最終的に生着する数は少ないと言われている。本研究では、膵島移植時に血管新生因子を産生する膵導管細胞を共移植することで、細胞死が抑制されるのではと仮説を立てた。新規ルシフェラーゼ産生マウス膵島を用いて移植効果を検討した。300膵島を肝内と腎被膜下へ移植した。移植部位での効果に差はなかった。膵導管細胞の共移植に移植効果は認めなかった。共移植のみでは、急性期の細胞障害を阻止することは難しく、さらなる細胞障害を軽減される工夫が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Islet transplantation is a promising therapy for brittle type 1 diabetes. However shortage of donor becomes a problem. Islet cell is vulnerable to stress insulted from islet isolation to transplantation. Therefore the number of islet cell which are alive finally is very few. We hypothesized that islet co-transplantation with pancreas ductal cell that secrete vascular growth factor can protect the islets from oxidative stress induced by ischemia. We also use newly develop technique with PDX1 derived luciferase system (Gluc). We transplanted 300 hundred Gluc islets into subcapsular of kidney or liver. The outcome was not different between the transplantation site. And co-transplantation was not affect the outcome. The co-transplantation is limited to protect islets from the stress. Therefore further innovation is needed for the success of islet transplantation.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：膵島 移植 生着 導管細胞 機能解析

1. 研究開始当初の背景

近年、1型糖尿病を標的とした膵島移植は、安全で生理的な血糖コントロールを得ることができる点から、重症1型糖尿病に対する治療選択肢の1つとなっているが、血糖コントロールを得るためには複数回の移植を必要とするため、ドナー不足という課題を有している。膵細胞は、酸化刺激に非常に脆弱な細胞である。臨床膵島移植では膵島は経門脈的に移植されるが、膵島周囲の血管新生が誘導されるまでの間、虚血状態に置かれることや、膵島自身が塞栓を起こし酸化ストレスが誘導され生着を阻害することが報告されている(Sakata N et al. 膵島 2009)。そのため、移植時に肝内の膵島生着を促す良好な移植環境を構築することが非常に重要な問題である。

2. 研究の目的

われわれは、米国の臨床膵島移植患者の膵管細胞から、膵島細胞以上に VEGF などのサイトカインが産生されていることを報告した。本研究においては、膵島分離時に生じる残渣細胞群から、膵管細胞を選択的に分離培養し、経門脈的に肝臓内へ膵島と共移植を施行し、その移植効果を検討した。

3. 研究の方法

Pdx1 プロモーター作動性分泌型ルシフェラーゼ発現マウスを用いて、膵島分離を行い、経門脈移植モデルを確立する。また血漿ルシフェラーゼ活性にて、肝内膵細胞量が測定可能か解析する。

4. 研究成果

8週齢の SCID マウスにストレプトゾトシンを腹腔内投与し糖尿病モデルを作成した。マウス腎被膜下または経門脈的に肝内に 100 膵島と 300 膵島を移植した。100 膵島では、血糖値の正常化はしなかった。300 膵島ではマウス腎被膜下移植モデルと経門脈移植モデルともに血糖値が正常化した。約 4 週間で糖尿病を発症した。300 膵島がマージナル移植モデルと考えられた。血清と尿のルシフェラーゼ活性を用いて膵島機能を測定した。血清、尿ともに測定可能であり、尿中ルシフェラーゼは血清に比較し、12.8 倍 ($P=0.012$) のルシフェラーゼ活性が高いことが判明し、尿中ルシフェラーゼが膵島量測定に望ましいと考えられた。100 膵島移植マウスと 300 膵島移植マウスともにルシフェラーゼは量的に測定可能であった。血清、尿ともに日内変化を測定したが、日内変化は認めなかった。これは、ルシフェラーゼは非常に安定しており、生体内でイン-アウトバランスが保たれていると考えられた。膵管細胞を抗 CD133 抗体でマグネットソートし、 1.0×10^6 個の導管細胞を共移植した。共移植群と通常の移植群において、尿中ルシフェラーゼ活性は有意な差は認めなかった。ルシフェラーゼ活性は、移植直後に最高値を認め、徐々に減少してプラトーとなり、糖尿病悪化とともに、活性値も減少した。移植直後は、塞栓形成し、膵島が破壊されルシフェラーゼが遊離することが考えられた。導管細胞移植モデルでも、同様な現象が認められた。このことから、従来から言われている、移植時のストレスに対する膵島の脆弱性が示唆されるため、University of Miami, Ricoridi 教授と UC

Irvine 市井准教授と共同研究でヒト膵島中の抗酸化物質の定量を現在行っており、pros one 誌に in press となりました。

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 2 件)

Divergent antioxidant capacity of human islet cell subsets: A potential cause of beta-cell vulnerability in diabetes and islet transplantation. Atsushi Miki, Camillo Ricordi, Yasunaru Sakumaa, Toshiyuki Yamamoto, Ryosuke Misawa, Atsuyoshi Mita, Ruth D. Molano, Nosratola D. Vaziri , Antonello Pileggi, Hirohito Ichii. Pros one. in press.

Quantitative assessment of Pdx1 promoter activity in vivo using a secreted Luciferase reporter system. Nishimura W, Eto K, Miki A, Goto M, Kawaguchi M, Nammo T, Udagawa H, Hiramoto M, Shimizu Y, Okamura T, Fujiwara T, Yasuda Y, Yasuda K. Endocrinology. 2013 Nov;154(11):4388-95.

[学会発表] (計 2 件)

The effect of leptin for islet beta cell specific manner with PDX-1 promoter activity assessment
Akira Kurosawa, Atsushi Miki, Wataru Nishimura, Takaaki Kimura, Kouji Nanmoku, Yasunaru Sakuma, Yukihiro Sanada, Hideki

Sasanuma, Kazue Morishim, Naoya Kasahara, Takashi Yagisawa, Naohiro Sata, Yoshikazu Yasuda. American pancreas association, 2014

バイオイメージングを用いた新規膵島細胞量の定量化法の開発. 三木 厚、西村 渉、佐久間 康成、佐田 尚宏、安田 是和 自治医科大学シンポジウム 2013

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三木 厚 (Miki, Atsushi)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：20570378

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()