

琉球大学学術リポジトリ

[総説]臨床膵島移植と細胞処理センター

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2017-08-01 キーワード (Ja): キーワード (En): islet transplantation, islet isolation, cell processing center (CPC), current Good Manufacturing Practice (cGMP) 作成者: 野口, 洋文 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016874

臨床膵島移植と細胞処理センター

野口 洋文

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座

Clinical islet transplantation and cell processing center

Hirofumi Noguchi

*Department of Regenerative Medicine
Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus*

ABSTRACT

Type 1 diabetes mellitus is an autoimmune disease characterized by the destruction of the islets of Langerhans cells, which produce insulin. Pancreatic islet transplantation is a promising option for the treatment of patients with type 1 diabetes who experience hypoglycemic unawareness despite receiving maximal care. Following the successful demonstration of the Edmonton protocol, more than 1,000 patients with type 1 diabetes have been treated at more than 50 institutions using islet transplantation. Clinical islet isolation is currently performed in a Good Manufacturing Practice (cGMP) islet processing facility, called a Cell Processing Center (CPC). The protocol for islet isolation has shown significant advancements on several fronts, including pancreatic ductal protection, improvements in pancreas preservation systems, a new islet purification method and culture/preservation of isolated islets. In this article, we review the current state of research regarding pancreatic islet transplantation. *Ryukyu Med. J., 34 (1, 2) 9~12, 2015*

Key words: islet transplantation, islet isolation, cell processing center (CPC), current Good Manufacturing Practice (cGMP)

はじめに

臨床膵島移植は1970年代から開始されたが¹⁾, 1999年まではインスリン離脱率が低く, 実験的医療とみなされていた。膵島移植が全世界で積極的に行われるようになったのは2000年のエドモントンプロトコルの報告からである²⁾。2000年以降, 現在までに50以上の施設で1,000名以上の患者に膵島移植が実施されている。日本でも, 2004年にわれわれが京都大学所属時に第一例目となる心停止ドナーからの膵島移植を実施し³⁾, 翌2005年には世界初成功例とな

る生体膵島移植を実施した⁴⁾。2007年から膵島分離に使用する薬剤の問題で日本の膵島移植は一時中断となったが, 2013年に再開され, 同年われわれが日本初となる脳死ドナー膵島移植を実施した。膵島移植再開後, 現在までに4名の患者に移植が実施されている。一方で, 膵島移植の問題点の一つとして膵島分離の難しさが挙げられており, 移植成績に施設間格差があることが明らかとなっている⁵⁾。われわれは膵島分離技術を積極的に改変し, 移植率(膵島分離を行い移植に至った率)を80%以上に上げることに成功している(世界平均は30-50%)。本稿ではわれわれの開発した膵島分離技術を概説するとともに, 膵島分離が行われ

Corresponding Author: 野口洋文, 琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座, 沖縄県中頭郡西原町字上原207番地. Tel : 098-895-1696. E-mail : noguchih@med.u-ryukyu.ac.jp

る細胞処理センター (Cell Processing Center: CPC) を紹介する。

膵島分離技術の改変

I. 膵管保護

膵管保護法とは、主膵管から逆行性に 1ml/g 膵重量の割合で保存液を注入する方法である。ハーバード大学ではブタの膵島分離に膵管保護法を用いており⁶⁾、われわれはこの技術をエドモントン法(リコルディ法)に応用した⁷⁾。膵管保護法を臨床応用化するに当たり、コラゲナーゼ抑制効果の低い modified Kyoto (MK) 溶液を採用した(後出)。われわれがこの研究を開始したころ、ミネソタ大学からラットの実験で膵管から少量の保存液を注入(おおよそ 0.05-0.1ml/g 膵重量)することによって成績が向上することが報告され⁸⁾、われわれの研究を促進させることとなった。この研究をもとに MK 溶液を用いた膵管保護法を臨床応用化し、良好な成績が得られている³⁾。

II. 膵臓保存溶液

世界的に使われている保存液として UW 溶液があるが、UW 溶液はコラゲナーゼの活性を抑制するため、膵消化を抑制するという欠点がある。膵管保護法を用いる場合は同じ場所からコラゲナーゼを注入するため、保存液のコラゲナーゼ抑制効果は大きな欠点となる。われわれは京都大学が開発した Kyoto 溶液にトリプシン抑制剤である Ulinastatin を加えた MK 溶液が、コラゲナーゼ抑制効果が低く、膵消化への悪影響が低い溶液であることが分かった⁹⁾。そのため、われわれは MK 溶液を膵保存および膵管保護の溶液として現在使用している。

III. 二層法保存

神戸大学の黒田前教授らのグループにより開発された「二層法保存」は、酸素化した perfluorochemical (PFC) と臓器保存液を用いた保存法であり、一時、多くの施設で使用されていた¹⁰⁻¹³⁾。大規模スタディで二層法保存と UW 単純保存とで有意差が認められないことが報告され^{14), 15)}、使用する施設は減少したが、われわれは現在でも二層法保存を行っている。PFC による組織の酸素化は、厚さ数ミリ程度にしか達しないことがわかっており¹⁶⁾、膵臓のトリミングの状態、および膵臓と PFC の接触範囲などが効果を上げるのに重要であると考えられる。

IV. 膵島純化

膵島純化は Ficoll を用いた比重遠心法を用いるのが一般的であるが、われわれは MK 溶液に Iodixanol

溶液を加えた IK 溶液を用いて比重をコントロールし、膵島純化を行っている。一般的に純化効率(純化後膵島収量を純化前膵島収量で割ったもの)は 55-65% であるが、IK 溶液による「比重コントロール純化」を用いた場合、純化効率は 80% 以上となった¹⁷⁾。現在では、Iodixanol 溶液と UW 溶液を混合したものを用いて比重コントロールを行っている施設も散見される。

V. 膵島追加純化

上記のとおり、膵島純化法の改変によって純化効率は 80% 以上となったが、残り 20% 弱の膵島が純化されずに残っていることになる。われわれのグループは回収できなかった膵島を再回収するため、Iodixanol 溶液と HBSS 溶液を用いて連続比重・連続浸透圧勾配法による膵島追加純化を行っている。膵島追加純化を行うことにより、10% 弱の膵島をさらに回収することが可能であり、最終的に 90% 近くの純化効率を達成している¹⁸⁾。

VI. 膵島低温保存

分離膵島は数時間-数日培養し、その後移植を行うのが一般的であるが、膵島培養による膵島収量の減少が認められる。われわれのグループでは非培養膵島を移植することを原則としているが、患者の前処置などのため膵島分離後にすぐに移植ができないケースも多々ある。われわれの研究で、膵島分離後 48 時間までなら、膵島培養を行うよりも UW 溶液による膵島低温保存を行ったほうが、移植成績が良いことが明らかとなっている¹⁹⁾。この研究結果をもとに、短時間であれば移植前に膵島培養ではなく膵島低温保存を行っている。

細胞処理センター

(Cell Processing Center: CPC)

欧米では臨床の膵島分離は細胞処理センター(以下 CPC)内で行われており、日本でも CPC 内で行うことを原則としている。CPC は Good Manufacturing Practice (GMP) 基準に則って管理・運営されている。平成 26 年 11 月に再生医療等の安全性の確保等に関する法律(再生医療等安全性確保法)が施行され、日本では膵島移植を含めた再生医療・細胞療法がこの法律のもとに実施されることとなった。これにより、再生医療・細胞療法における CPC 使用は必須となり、安全性が担保されることとなったが、一方で CPC の管理・維持費や管理者の教育などの問題が残っている。特に管理・維持費は、再生医療・細胞療法の中で保険適応となっている医療がほとんどない現状では解決するのに時間がかかると予想され、研究者の大きな負担となっている。

まとめ

膵島移植は患者への身体的負担が小さく安全性の高い医療であるが、一方でCPC使用の必要性があり、費用面での問題がある。また、日本では脳死ドナー不足のため、少数の膵島移植しか実施されていないのが現状である。今後は膵島移植の成績向上を求めた研究のみならず、費用面での負担を軽減する研究も行っていく必要があると思われる。また、ドナー不足改善のため国民への普及啓発活動を行うとともに、関係者の方々への協力要請を積極的に行っていく必要がある。

文 献

- 1) Najarian J.S., Sutherland D.E., Matas A.J., Steffes M.W., Simmons R.L., and Goetz F.C.: Human islet transplantation: a preliminary report. *Transplant Proc.* 9: 233-236, 1997.
- 2) Shapiro A.M., Lakey J.R., Ryan E.A., Korbitt G.S., Toth E., Warnock G.L., Kneteman N.M., and Rajotte R.V.: Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med.* 343: 230-238, 2000.
- 3) Noguchi H., Iwanaga Y., Okitsu T., Nagata H., Yonekawa Y., and Matsumoto S.: Evaluation of islet transplantation from non-heart beating donors. *Am J Transplant.* 6: 2476-2482, 2006.
- 4) Matsumoto S., Okitsu T., Iwanaga Y., Noguchi H., Nagata H., Yonekawa Y., Yamada Y., Fukuda K., Tsukiyama K., Suzuki H., Kawasaki Y., Shimodaira M., Matsuoka K., Shibata T., Kasai Y., Maekawa T., Shapiro J., and Tanaka K.: Insulin independence after living-donor distal pancreatectomy and islet allotransplantation. *Lancet.* 365: 1642-1644, 2005.
- 5) Shapiro A.M., Ricordi C., Hering B.J., Auchincloss H., Lindblad R., Robertson R.P., Secchi A., Brendel M.D., Berney T., Brennan D.C., Cagliero E., Alejandro R., Ryan E.A., DiMercurio B., Morel P., Polonsky K.S., Reems J.A., Bretzel R.G., Bertuzzi F., Froud T., Kandaswamy R., Sutherland D.E., Eisenbarth G., Segal M., Preiksaitis J., Korbitt G.S., Barton F.B., Viviano L., Seyfert-Margolis V., Bluestone J., and Lakey J.R.: International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med.* 355:1318-1330, 2006.
- 6) Yonekawa Y., Matsumoto S., Okitsu T., Arata T., Iwanaga Y., Noguchi H., Nagata H., O'Neil J.J., and Tanaka K.: Effective islet isolation method with extremely high islet yields from adult pigs. *Cell Transplant.* 14: 757-762, 2005.
- 7) Noguchi H., Ueda M., Hayashi S., Kobayashi N., Okitsu T., Iwanaga Y., Nagata H., Nakai Y., and Matsumoto S.: Ductal injection of preservation solution increases islet yields in islet isolation and improves islet graft function. *Cell Transplant.* 17:69-81, 2008.
- 8) Sawada T., Matsumoto I., Nakano M., Kirchhof N., Sutherland D.E., and Hering B.J.: Improved islet yield and function with ductal injection of University of Wisconsin solution before pancreas preservation. *Transplantation.* 75: 1965-1969, 2003.
- 9) Noguchi H., Ueda M., Nakai Y., Iwanaga Y., Okitsu T., Nagata H., Yonekawa Y., Kobayashi N., Nakamura T., Wada H., and Matsumoto S.: Modified two-layer preservation method (M-Kyoto/PFC) improves islet yields in islet isolation. *Am J Transplant.* 6: 496-504, 2006.
- 10) Noguchi H., Levy M.F., Kobayashi N., and Matsumoto S.: Pancreas preservation by the two-layer method: does it have a beneficial effect compared with simple preservation in University of Wisconsin solution? *Cell Transplant.* 18:497-503, 2009.
- 11) Tsujimura T., Kuroda Y., Kin T., Avila J.G., Rajotte R.V., Korbitt G.S., Ryan E.A., Shapiro A.M., and Lakey J.R.: Human islet transplantation from pancreases with prolonged cold ischemia using additional preservation by the two-layer (UW solution/perfluorochemical) cold-storage method. *Transplantation.* 74:1687-1691, 2002.
- 12) Ricordi C., Fraker C., Szust J., Al-Abdullah I., Poggioli R., Kirlew T., Khan A., and Alejandro R.: Improved human islet isolation outcome from marginal donors following addition of oxygenated perfluorocarbon to the cold-storage solution. *Transplantation.* 75:1524-1527, 2003.
- 13) Hering B.J., Kandaswamy R., Harmon J.V., Ansite J.D., Clemmings S.M., Sakai T., Paraskevas S., Eckman P.M., Sageshima J.,

- Nakano M., Sawada T., Matsumoto I., Zhang H.J., Sutherland D.E., and Bluestone JA.: Transplantation of cultured islets from two-layer preserved pancreases in type 1 diabetes with anti-CD3 antibody. *Am J Transplant.* 4:390-401, 2004.
- 14) Caballero-Corbalán J., Eich T., Lundgren T., Foss A., Felldin M., Källen R., Salmela K., Tibell A., Tufveson G., Korsgren O., and Brandhorst D.: No beneficial effect of two-layer storage compared with UW-storage on human islet isolation and transplantation. *Transplantation.* 84:864-869, 2007.
- 15) Kin T., Mirbolooki M., Salehi P., Tsukada M., O'Gorman D., Imes S., Ryan E.A., Shapiro A.M., and Lakey J.R.: Islet isolation and transplantation outcomes of pancreas preserved with University of Wisconsin solution versus two-layer method using preoxygenated perfluorocarbon. *Transplantation.* 82:1286-1290, 2006.
- 16) Papas K.K., Hering B.J., Guenther L., Rappel M.J., Colton C.K., and Avgoustiniatos E.S.: Pancreas oxygenation is limited during preservation with the two-layer method. *Transplant Proc.* 37:3501-3504, 2005.
- 17) Noguchi H., Ikemoto T., Naziruddin B., Jackson A., Shimoda M., Fujita Y., Chujo D., Takita M., Kobayashi N., Onaca N., Levy M.F., and Matsumoto S.: Iodixanol-controlled density gradient during islet purification improves recovery rate in human islet isolation. *Transplantation.* 87:1629-1635, 2009.
- 18) Noguchi H., Naziruddin B., Shimoda M., Chujo D., Takita M., Sugimoto K., Itoh T., Onaca N., Levy M.F., and Matsumoto S.: A combined continuous density/osmolality gradient for supplemental purification of human islets. *Cell Med.* 3:33-41, 2012
- 19) Noguchi H., Naziruddin B., Jackson A., Shimoda M., Ikemoto T., Fujita Y., Chujo D., Takita M., Kobayashi N., Onaca N., Levy M.F., and Matsumoto S.: Low-temperature preservation of isolated islets is superior to conventional islet culture before islet transplantation. *Transplantation.* 89:47-54, 2010.