

膵島移植の現状と今後の展開

穴澤 貴行 岡島 英明 上本 伸二

キーワード：膵島移植，細胞移植，1型糖尿病，再生医療

はじめに

膵島移植は，重症低血糖発作を伴う1型糖尿病に対する低侵襲治療法として確立が期待される医療である。本邦では2004年にはじめて臨床応用され，これまで「組織移植」の範疇で実施されてきた。2014年に施行された再生医療等安全性確保法により第1種再生医療等に分類され，今後は「再生医療」としての評価も行われる。膵島移植の臨床展開には，医学的および医療制度的な複数のハードルが存在し，今後の細胞治療の発展に示唆を与える経験も蓄積されている。膵島移植の現状を報告し，今後の展望を考察する。

膵島移植の方法と現状

インスリン分泌能が廃絶した1型糖尿病においては，糖尿病専門医による厳格な治療を遵守していても高血糖や低血糖を繰り返し，特に無自覚性の低血糖発作により，生活の質が著しく損なわれる場合がある。このような病態を根治しうる治療として，膵臓移植と膵島移植という移植治療が行われている¹⁾。臓器移植として分類される膵臓移植は，高い確率でインスリンからの離脱が期待されるが，侵襲の高い手術を必要とする点や，合併症の重篤度が問題となる。組織移植あるいは細胞移植として実施される膵島移植は，膵島のみを局所麻酔下に門脈内に輸注する低侵襲かつ安全性の高い治療法であり，膵臓移植に替わる治療として確立が期待されてきた²⁾。

膵島移植は，1980年代に提唱された方法を基本に実施されている³⁾。移植する膵島は，膵摘出→保存・運搬→膵臓膨化→膵臓消化→膵島純化→純化後の培養からなる「膵島分離」という過程で準備される(図1)。すなわち，ドナーから提供された膵を単純浸漬保存または二層法⁴⁾により冷保存し，GMP基準を満たす細胞調製室に搬送する。膵管内に膵島分離用酵素を含む溶液を低温下に注入し，膵臓の膨化を行う。引き続き，「Ri-

cordi system」と言われる回路の中で，分離用酵素が作用する最適な温度まで上昇させ膵の消化を行う³⁾。消化後に，膵外分泌組織より膵島の比重が軽いことを利用して，比重遠心分離装置を用いて純化する。その結果，5,000IEQ/kg(レシピエント体重)以上の膵島収量があり，純度30%以上，組織量10ml未満，viability 70%以上，エンドトキシン5IU/kg未満，グラム染色陰性，といった基準を満たした場合に移植することが決定される。この膵島分離の過程は，膵保存法の工夫⁵⁾，膵島分離酵素の改良⁶⁾，膵純化方法の進化⁷⁾といった改善が施されることで発展してきており，膵島移植の成績改善に寄与してきた。

移植の基準を満たした膵島は，局所麻酔下で経皮経肝的に門脈内に留置したカテーテルから移植される。門脈内穿刺に際する出血が合併症として報告されているが⁸⁾，全身麻酔や開腹術が不要で，短時間で移植自体は終了する低侵襲な移植治療である。

膵島移植は全世界ですでに1,000例を超える実施例があるが，大規模なランダム化比較試験は実施されておらず，規模の比較的小さい臨床試験が様々な方法で実施されているため，膵島移植と膵臓移植との比較，あるいは膵島移植とインスリン強化療法の比較により，膵島移植がどのような臨床的意義をもたらすのかどうかは明らかにされていない。これまでに行われた臨床試験の中で，最も大きなインパクトを与えたものは，2000年に発表された「エドモントン・プロトコル」による膵島移植でのインスリン離脱成功報告⁹⁾である。導入療法に抗IL-2モノクローナル抗体，維持療法にmTOR阻害剤と低用量のカルシニューリン阻害剤を採用して，膵島毒性が強いと考えられたステロイドを排除した免疫抑制療法を採用し，複数(最大3名)のドナーから得られた新鮮膵島を一人のレシピエントに異時性に移植することを特徴としたプロトコルで，1型糖尿病7症例全例でインスリン離脱が達成されたと報告された。

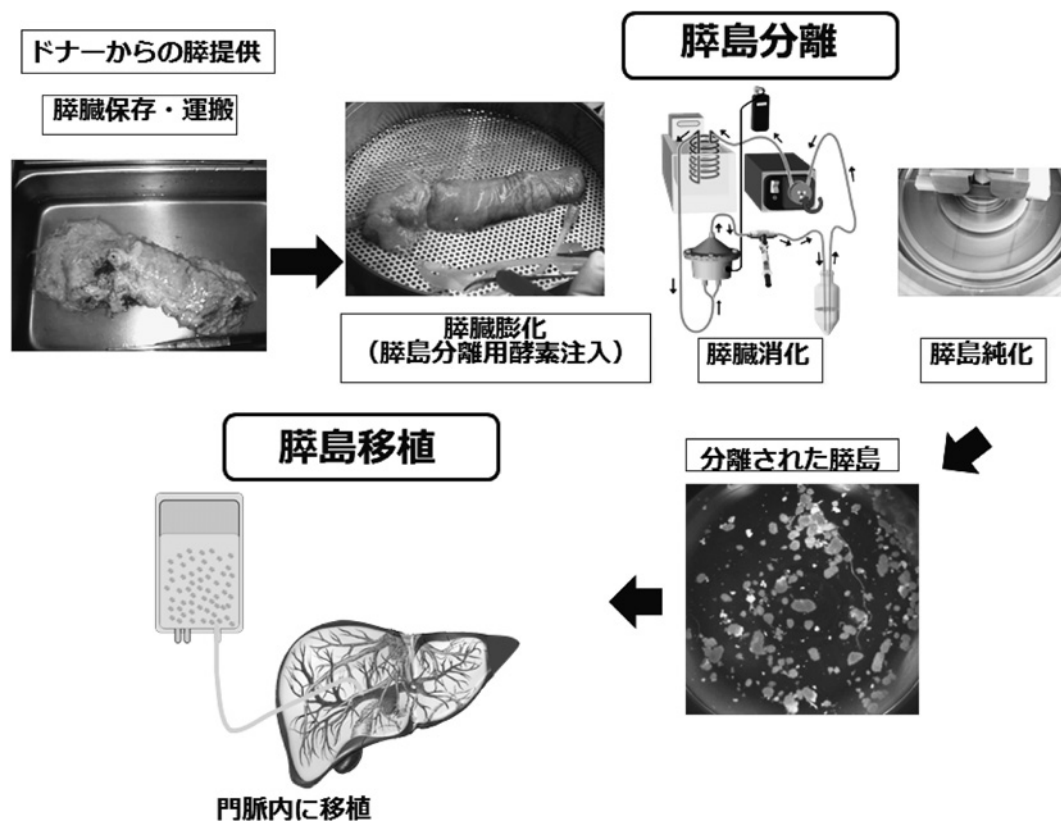


図1 膵臓分離と膵臓移植

この方法は欧米での多施設共同試験へと発展し、膵臓移植を受けた1型糖尿病患者に、長期にわたる内因性インスリン産生と血糖安定性を回復させることに成功し、重症低血糖発作から解放されることが可能であるとされた。しかし、長期的にインスリンを離脱することは難しいことも示唆され、長期成績の改善が課題となった¹⁰⁾。

本邦でも海外の動きをふまえ、日本膵・膵臓移植研究会の膵臓移植班を中心として臨床膵臓移植の実施がされてきた。2004年に京都大学において本邦初の臨床膵臓移植が実施され、以降、2007年途中まで各施設の臨床研究として実施されてきた。その間、主に心停止ドナーから65回のヒト膵臓分離が行われ、このうち34回が後述する移植の条件を満たし、18症例に対して膵臓移植が行われた。18例に対する移植回数は1回8名、2回4名、3回6名であった。インスリン必要量およびHbA1c値は術前に比して減少し、生着中は重症低血糖発作の消失が得られたことが確認された¹¹⁾。また2007年までの本邦における膵臓移植症例の初回移植後1年、2年、5年時における膵臓生着率はそれぞれ72.2%、44.4%、22.2%であった¹²⁾。これらの移植実施の中で、移植手技に伴う重篤な有害事象は、門脈穿刺に伴う腹腔内出血が1例のみで、その他は免疫抑制剤の副作用と思われる有害事象のみで、移植手技の安全性が示唆

された(図2)。欧米では用いられない心停止ドナーからの提供による膵臓移植の臨床的意義を示した重要な結果であるが、長期生着に改善の余地があること、ドナー不足のため、全てのレシピエントに複数の移植を実施することが困難であるといった課題も明らかとなった。

2016年4月現在、本邦での膵臓移植の実施施設は、北から東北大学、福島県立医科大学、国立国際医療研究センター、国立病院機構千葉東病院、信州大学、京都大学、大阪大学、徳島大学、福岡大学、長崎大学の10施設である。日本膵・膵臓移植研究会が定める膵臓移植の主な適応基準は、①内因性インスリン分泌が著しく低下し、インスリン治療を必要とする状態で、②糖尿病専門医の治療努力によっても血糖コントロールが困難な、③75歳以下の患者、と定められている。腎機能の観点からは、膵臓単独移植の場合は糖尿病性腎症3期までを適応とし、腎移植後膵臓移植症例では、移植後6カ月以上経過し、クレアチニン1.8mg/dl以下で直近6カ月の血清クレアチニンの上昇が0.2以下で、ステロイド内服量10mg/日以下、などの基準を満たす症例を移植の対象としている。

膵臓移植成績向上への取り組み

膵臓移植の臨床応用は、細胞移植という新たな低侵

重度と判定された有害事象	頻度
貧血	3
腹腔内出血※	1
口内炎	1
腎機能障害 腎不全	1
下痢	1
急性上気道炎	1
頸部膿瘍	1
下腿蜂窩織炎からの敗血症	1

※手術に関連した事象

対象：2004年～2007年までに実施された18症例
34回の膵島移植

図2 膵島移植に関する有害事象

襲治療の発展可能性を示したが、一方で生着率については臓器移植を凌駕するものではないことが課題となった。膵島移植の生着率向上を阻む因子として、移植時にグラフトが被る炎症反応、急性拒絶反応、さらに対象疾患が1型糖尿病によることに伴う自己免疫反応の再燃、等が挙げられ¹³⁾、それらへの対応が成績向上に繋がるものと考えられた。これらを制御するプロトコルとして、初回の免疫抑制導入療法に抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリンを用い、さらに抗炎症療法として可溶性 TNF-alpha レセプター製剤も導入時に使用する方法が提唱され、従来より少ない膵島移植量でもインスリン離脱が可能であることが報告された¹⁴⁾。欧米で多施設で膵島移植の臨床試験等を実施するために組織された Clinical Islet Transplantation Consortium では、このプロトコルを基に、米国における同種由来膵島の「License」を得るための多施設共同第3相臨床試験が計画された(CIT-07, Clinicaltrials.gov NCT00434811)⁸⁾¹⁵⁾。この試験は、膵島移植が、HbA1c 値を良好にコントロールした上で重症無自覚性低血糖を予防することが可能な治療かどうかを検証する試験で、抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリンと可溶性 TNF-alpha レセプター製剤が導入時に使用され、維持療法としては低用量カルシニューリンインヒビターに加え、シロリムスまたはミコフェノール酸モフェチルを用いた。厳格な基準に基づいて選択された48名の1型糖尿病患者が対象となり、8カ所の施設で移植が実施された。22名が1回のみの移植、25名が2回の移植を受け、3回の移植を受けた例は1症例のみであった。主要エンドポイントは初回移植後1年後に HbA1c 値が7.0% 未満であり、かつ重症

低血糖発作が初回移植後75日から365日の間に消失することとされていたが、87.5%の症例が主要エンドポイントを満たしたと報告された。副次エンドポイントに関しては、71%の症例では2年後も主要エンドポイントの基準を満たしており、さらに52%の症例では1年後にはインスリン離脱を達成していたと報告された。この試験の成功により、今後米国においても重症低血糖発作を有する1型糖尿病患者の標準的治療として承認される見通しとなった。

本邦では、前述の臨床研究の実施中に、膵島分離用酵素の供給停止という問題¹⁶⁾が発生し、一時臨床膵島移植を停止せざるを得なくなった。その間、本邦でも膵島移植確立を目指し、多施設共同臨床試験体制が整備された。海外での趨勢を受けて、抗胸腺細胞免疫グロブリン、可溶性 TNF-alpha レセプター製剤による導入療法を採用したプロトコルを作成し(図3)、先進医療Bの承認を受けて試験が実施されている(UMIN試験ID: UMIN000003977)。移植成績は臨床試験終了後に公表されるが、現在のところ重篤な有害事象の発生なく試験は継続している。

本邦での膵島移植の確立において最大の障害はドナー数の不足である。膵島移植は「組織移植」の範疇で実施されており、ドナーから提供された臓器は臓器移植である膵臓移植のための提供が優先され、医学的理由により膵臓移植に用いられない場合にのみ、膵島移植のための提供が行われる。以前は膵臓移植に原則用いられない心停止ドナーからの提供が主であったが、改正臓器移植法により脳死ドナーの増加が得られた一方で、心停止ドナー数の減少がみられ、結果的に膵島移

		初回	2回目	3回目
導入免疫療法	抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン	○		
	バシリキシマブ		○	○
	エタネルセプト (TNF- α レセプター製剤)	○	○	○
維持免疫療法	カルシニューリン阻害剤(いずれか)	タクロリムス	→	
		サイクロスポリン	→	
	核酸代謝阻害薬	ミコフェノール酸モフェチル	→	

図3 膵島移植臨床試験の免疫抑制プロトコール

植の対象となり得るドナー数は減少している傾向がある。今後、高齢や肥満といった膵臓移植に適さないが膵島移植ならば可能であるというドナーを適切に区別し、膵臓移植との allocation を確立することが、膵臓移植手術のリスク低下や、ドナーの意思を最大に活かすことに寄与し、さらに膵島移植の実施例の増加や移植成績の向上にも寄与するものと思われる。

膵島移植・今後の展開

2014年に「再生医療等安全性確保法」「医薬品医療機器等法」が制定・改正され、再生医療の健全な発展を推進する体制が整備された。膵島移植は、膵島分離用酵素を用いて細胞を「加工」すること、他家由来の細胞が移植されること、等から、再生医療等安全性確保法において第1種再生医療等として分類されることとなった。その安全性の確保は法に則った上で行われることが制度化され、より厳格な基準の中で臨床実施される。再生医療等安全性確保法により、特定細胞加工物の外部委託が可能となり、医薬品医療機器等法により、再生医療製品が有効性の推定段階でも安全性の確認時点で条件付承認が可能となったため、再生医療分野に多くの企業が参画するようになってきた。糖尿病治療の分野は、再生医療の発展が期待される代表的な分野であり、様々な再生医療的アプローチが膵島移植の技術と融合することが期待されている。

iPS/ES細胞といった多能性幹細胞から膵 β 細胞を作製する研究は以前より世界中で盛んに行われており、近年の報告では、成熟した β 細胞に極めて近い細胞がiPS/ES細胞から作製することが可能となり¹⁷⁾¹⁸⁾、その大量作成に向けた研究開発も進んでいる。海外では、ES細胞から作成したインスリン産生細胞をマクロカプセル化し移植する方法を確立し¹⁹⁾、臨床試験がすでに開始されており(Clinicaltrials.gov NCT02239354)、幹細胞から再生した膵 β 細胞を用いた糖尿病治療は臨床応用

の時代に入ったといえる。

ブタ膵島を用いた異種膵島移植は、より現実的なアプローチとして注目されている。遺伝子改変のないブタ膵島のサルへの移植系において、複数の免疫抑制剤の併用により比較的長期の移植膵島の生着が得られることが示されて以降²⁰⁾、異種移植の中で最も成功する可能性の高い技術は膵島移植であろうと考えられるようになり、盛んに研究されてきた²¹⁾。異種膵島移植は、ドナーの出現を待たずとも大量に膵島を得られることができ、ブタであれば倫理的にも許容される可能性が高く、またゲノム編集技術を用いて更なる成績改善を得ることも期待される。すでに海外の一部では、カプセル化した異種(ブタ)膵島を移植する臨床研究も行われている²²⁾。以前は、ブタ内在性レトロウイルスのヒトへの感染への懸念が払拭されないことが、本邦での異種膵島移植の研究が進まない一つの要因となっていたが、国際的にこのレトロウイルス感染の可能性が極めて小さいことへのコンセンサスが得られるようになり²³⁾、「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」が改定されることとなった。これにより国内でもブタ膵島移植の臨床展開を具体化しようとする動きが始まり、今後の展開が期待される。

iPS由来膵島およびブタ膵島の移植の臨床展開においては、安全性をより確実に担保し、かつ移植効率が維持される移植法が望まれる。現行の膵島移植は門脈内に移植されているが、移植時に起こる補体、凝固、自然免疫反応等により引き起こされる血栓性・炎症性反応等により多くの膵島を喪失するうえ²⁴⁾、一旦肝内に移植してしまうと移植グラフトに問題が生じた際にそのグラフトを除去することは不可能となる。新たな移植部位の開発が望まれるが、例えば皮下に血管床を誘導するようなアプローチにより十分な移植効率を有する移植部位の作製に成功したとする報告がなされている²⁵⁾。皮下であればグラフトの観察・除去もある程度可能で

あることが予想され、今後開発が最も期待される移植部位であると考えている。このような新たな移植部位の作成といったアプローチも広義では再生医療の範疇と考えられ、再生医療関連法の下で早期に臨床展開することが期待される。

おわりに

膝島移植は、重症低血糖発作に苦しむ1型糖尿病患者の治療オプションとしての確立が期待されている。この医療技術は、再生医療研究実用化のための出口を提供し、さらなる研究推進に繋げる役割も担う可能性も有しており、今後の展開が注目される。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

本稿は、第64回日本輸血・細胞治療学会総会・教育講演（細胞治療サイエンス・フォーラム）での発表をもとに書き下ろしたものである。

文 献

- 1) Anazawa T, Tsuchiya T, Gotoh M: [Pancreas and islet transplantation]. *Nihon Rinsho*, 70 (Suppl 3): 790—794, 2012.
- 2) Anazawa T, Okajima H, Uemoto S: [Pancreatic islet transplantation]. *Nihon Rinsho*, 73 (12): 2117—2122, 2015.
- 3) Ricordi C, Lacy P, Scharp D: Automated islet isolation from human pancreas. *Diabetes*, 38 (Suppl 1): 140—142, 1989.
- 4) Tsujimura T, Kuroda Y, Avila J, et al: Influence of pancreas preservation on human islet isolation outcomes: impact of the two-layer method. *Transplantation*, 78 (1): 96—100, 2004.
- 5) Noguchi H, Ueda M, Nakai Y, et al: Modified two-layer preservation method (M-Kyoto/PFC) improves islet yields in islet isolation. *Am J Transplant*, 6 (3): 496—504, 2006.
- 6) Balamurugan AN, Breite AG, Anazawa T, et al: Successful human islet isolation and transplantation indicating the importance of class I collagenase and collagen degradation activity assay. *Transplantation*, 89 (8): 954—961, 2010.
- 7) Anazawa T, Matsumoto S, Yonekawa Y, et al: Prediction of pancreatic tissue densities by an analytical test gradient system before purification maximizes human islet recovery for islet autotransplantation/allotransplantation. *Transplantation*, 91 (5): 508—514, 2011.
- 8) Hering BJ, Clarke WR, Bridges ND, et al: Phase 3 Trial of Transplantation of Human Islets in Type 1 Diabetes Complicated by Severe Hypoglycemia. *Diabetes Care*, 39 (7): 1230—1240, 2016.
- 9) Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al: Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med*, 343 (4): 230—238, 2000.
- 10) Shapiro A, Ricordi C, Hering B, et al: International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med*, 355 (13): 1318—1330, 2006.
- 11) Saito T, Gotoh M, Satomi S, et al: Islet transplantation using donors after cardiac death: report of the Japan Islet Transplantation Registry. *Transplantation*, 90 (7): 740—747, 2010.
- 12) Anazawa T, Saito T, Goto M, et al: Long-term outcomes of clinical transplantation of pancreatic islets with uncontrolled donors after cardiac death: a multicenter experience in Japan. *Transplant Proc*, 46 (6): 1980—1984, 2014.
- 13) de Kort H, de Koning EJ, Rabelink TJ, et al: Islet transplantation in type 1 diabetes. *BMJ*, 342: d217, 2011.
- 14) Hering B, Kandaswamy R, Ansite J, et al: Single-donor, marginal-dose islet transplantation in patients with type 1 diabetes. *JAMA*, 293 (7): 830—835, 2005.
- 15) Ricordi C, Goldstein JS, Balamurugan AN, et al: NIH-sponsored Clinical Islet Transplantation Consortium Phase 3 Trial: Manufacture of a Complex Cellular Product at Eight Processing Facilities. *Diabetes*, 2016.
- 16) Saito T, Anazawa T, Gotoh M, et al: Actions of the Japanese Pancreas and Islet Transplantation Association Regarding Transplanted Human Islets Isolated Using Liberase HL. *Transplant Proc*, 42 (10): 4213—4216, 2010.
- 17) Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, et al: Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell*, 159 (2): 428—439, 2014.
- 18) Rezaei A, Bruin JE, Arora P, et al: Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*, 32 (11): 1121—1133, 2014.
- 19) Agulnick AD, Ambruzs DM, Moorman MA, et al: Insulin-Producing Endocrine Cells Differentiated In Vitro From Human Embryonic Stem Cells Function in Macroencapsulation Devices In Vivo. *Stem Cells Transl Med*, 4 (10): 1214—1222, 2015.

- 20) Hering B, Wijkstrom M, Graham M, et al: Prolonged diabetes reversal after intraportal xenotransplantation of wild-type porcine islets in immunosuppressed nonhuman primates. *Nat Med*, 12 (3): 301—303, 2006.
- 21) Hering B, Walawalkar N: Pig-to-nonhuman primate islet xenotransplantation. *Transpl Immunol*, 21 (2): 81—86, 2009.
- 22) Cooper DK, Matsumoto S, Abalovich A, et al: PROGRESS IN CLINICAL ENCAPSULATED ISLET XENOTRANSPLANTATION. *Transplantation*, 2016.
- 23) Denner J, Tönjes RR, Takeuchi Y, et al: First update of the International Xenotransplantation Association consensus statement on conditions for undertaking clinical trials of porcine islet products in type 1 diabetes—Chapter 5: recipient monitoring and response plan for preventing disease transmission. *Xenotransplantation*, 23 (1): 53—59, 2016.
- 24) Moberg L, Johansson H, Lukinius A, et al: Production of tissue factor by pancreatic islet cells as a trigger of detrimental thrombotic reactions in clinical islet transplantation. *Lancet*, 360 (9350): 2039—2045, 2002.
- 25) Luan NM, Iwata H: Long-term allogeneic islet graft survival in prevascularized subcutaneous sites without immunosuppressive treatment. *Am J Transplant*, 14 (7): 1533—1542, 2014.

THE CURRENT STATE OF PANCREATIC ISLET TRANSPLANTATION

Takayuki Anazawa, Hideaki Okajima and Shinji Uemoto

Division of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery and Transplantation, Department of Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Keywords:

Pancreatic islet transplantation, Cell transplantation, Type 1 diabetes, Regenerative medicine

©2016 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.jstmct.or.jp/>