

第 21 回日本異種移植研究会 プログラム・抄録集

Abstracts of the 21st Annual Meeting of Japanese Society
for Xenotransplantation

2019年2月16日（土）9:30-17:00

沖縄コンベンションセンター 会議棟 B1

当番世話人 野口洋文

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座

目次

当番世話人挨拶	2
ご案内	3
会場案内	5
日程表	7
プログラム	8
特別講演（レクチャー・ランチョン）	15
シンポジウム	19
一般演題	27
研究会開催記録	49
協賛企業一覧	50

ご挨拶

この度、第21回日本異種移植研究会を平成31年2月16日（土）に沖縄コンベンションセンター会議棟において開催させていただくこととなりました。

世界での異種移植研究の発展は目覚ましいものがあり、遺伝子編集技術を駆使しブタ内在性レトロウイルス（PERV）の除去に成功した報告や、サルを使った前臨床性試験で異所性の移植心臓が2年以上生着している報告など、目を見張るような報告がなされています。さらにブタ腓島の人への移植が海外では臨床実施されており、いよいよ時機到来の感があります。

日本異種移植研究会は20年以上の歴史を持つ研究会で施設会員数も48施設となっており、北は北海道から南はわれわれの施設のある沖縄まで、全国を網羅した研究会となっております。最近では、ブタの臓器をヒトに移植する研究だけではなく、ブタなどの動物の体内でヒトの臓器を作製する、いわゆる「再生医療」との融合研究も盛んに行われるようになっていきます。

沖縄は移動の面で何かとご不便をおかけいたしますが、亜熱帯の気候の中、見てよし、食べてよしのところが多くございます。近くではプロ野球のキャンプも行われており、お時間のあるかたはそちらのほうも堪能していただければ幸いです。

実りある研究会になりますよう関係者一同最善を尽くす所存でございますので、多数のご参加を心よりお待ちしております。

末筆ながら、先生方の益々のご健勝をお祈り申し上げます。

第21回日本異種移植研究会 当番世話人 野口洋文

ご案内

1.参加者の皆様へ

- 日時

平成 31 年 2 月 16 日（土） 9:30～17:00

- 会場

沖縄コンベンションセンター 会議棟 B（B1）2F

- 開場時間

2 月 16 日（土） 8:30 から

- 参加受付

受付にて、参加費 5,000 円（抄録集代含む）を納入頂き、ネームカードをお受け取り下さい。ネームカードにご所属とお名前をご記入のうえ、見えるところにお付けください。ネームカードが確認できない場合、ご入場をお断りすることがございます。また、ネームカードが領収書となりますのでなくされませんようにご注意下さい。紛失の際、再発行は致しかねますのでご了承ください。

2.世話人会議

日時：平成 31 年 2 月 16 日（土） 8:45～9:30

会場：沖縄コンベンションセンター 会議棟 B（B4）1F

3.懇親会

日時：平成 31 年 2 月 16 日（土） 18:30～20:30

会場：ラグナガーデンホテル レストランパセオガーデン

沖縄県宜野湾市真志喜 4-1-1 1F Tel:098-897-2121

会費：4,500 円 ※当日、研究会会場にて申し受けます

4.発表について

発表形式はパソコンとプロジェクターを用いた口頭発表になります。

一般演題は口演 6 分、質疑応答 2 分の合計 8 分です。時間厳守でお願い致します。

事前に、当日使うパソコンにデータをいれ準備をしますので、発表データを 2 月 13 日までに以下のメールアドレスまで送ってください。

送付先：saiseijm@jim.u-ryukyu.ac.jp

場合により、当日パソコンを持ち込む場合は事前にご連絡をお願い致します。

●発表データ

Windows における Powerpoint2016 に対応する形で作成して下さい。

特殊なフォントのご使用は避けてください。

Mac での作成しかできない場合は、当日パソコンをご持参下さい。

動画・音声は使用できませんので、動画がある場合もご自身のパソコンをお持ちください。

●当日データの持ち込みをされる方へ

USB にファイル名を「演題番号_演者名」としたデータを入れてください。

このフォルダには発表に使用するデータ以外は入れないでください。

発表 30 分前にまでに受付をしていただき、USB ストレージはその場でご返却いたします。

●パソコンを持ち込まれる方へ

外部出力できる PC をご持参下さい。

会場に用意するケーブルコネクタは HDMI、D-sub(15 ピン)です。

HDMI、D-sub(15 ピン)が装備されていない場合は付属アダプターを各自でご用意ください。

必ず AC アダプター（電源コード）をご持参下さい。

当日、研究会開始前（9 時 15 分）までに接続テストをお済ませください。

5.連絡先

第 21 回日本異種移植研究会事務局

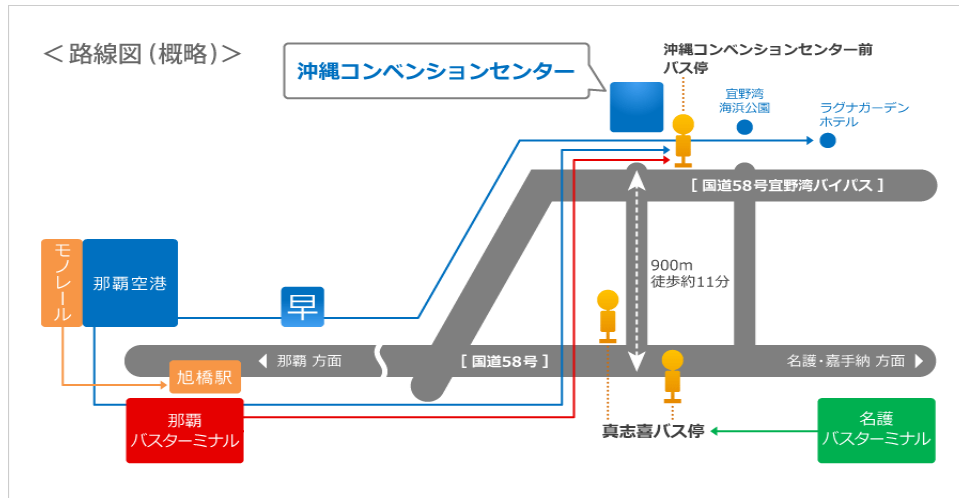
担当者：潮平・嘉数

〒903-0215 沖縄県中頭郡西原町字上原 207 番地

琉球大学大学院医学研究科再生医学講座

Tel:098-895-1698 Mail: saiseijm@jim.u-ryukyu.ac.jp

会場までのアクセス

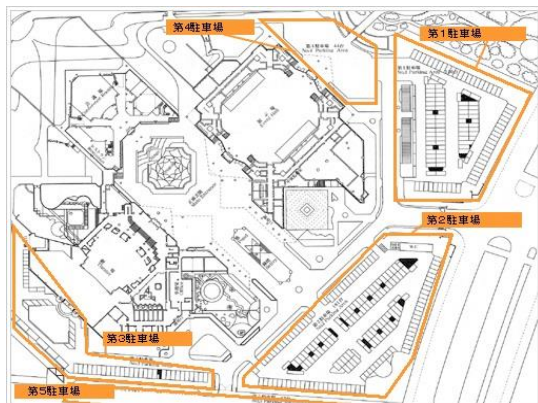


空港から

- 空港3番乗り場から那覇バスターミナル経由沖縄コンベンションセンター前バス停まで約50～70分(570円) 系統番号26番(50分)・99番(70分)
- 空港から便利な「空港リムジンバス」-空港12番乗り場からラグナガーデンホテルまで約55分(600円)
※沖縄コンベンションセンター前には止まりません。
ラグナガーデンホテルから沖縄コンベンションセンターまで徒歩10分
- モノレール(乗り継ぎで便利な旭橋駅と古島駅まで)
 - ・ 空港から旭橋駅まで約11分(260円)
旭橋駅からバスターミナルまで徒歩3分
 - ・ 空港から古島駅まで約21分(330円)
古島駅から沖縄コンベンションセンターまで約15分(1,800円)

那覇バスターミナルから

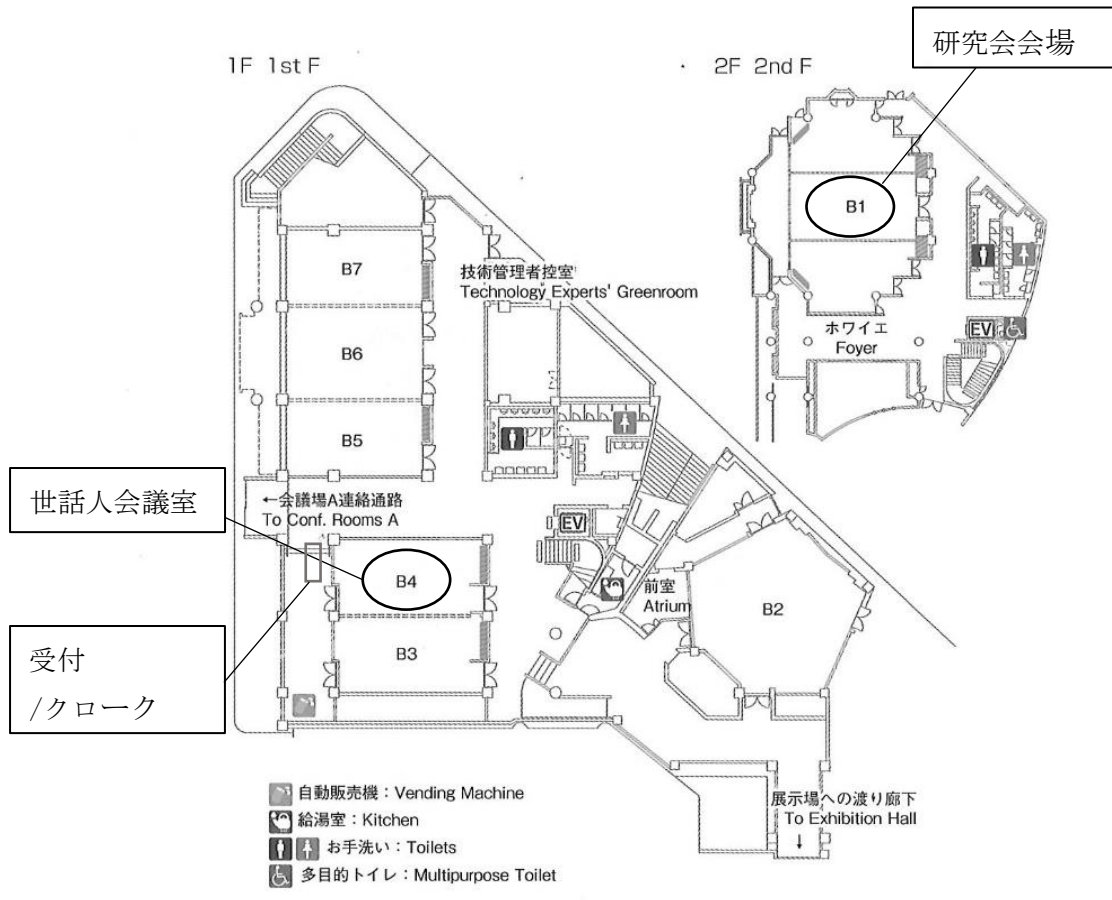
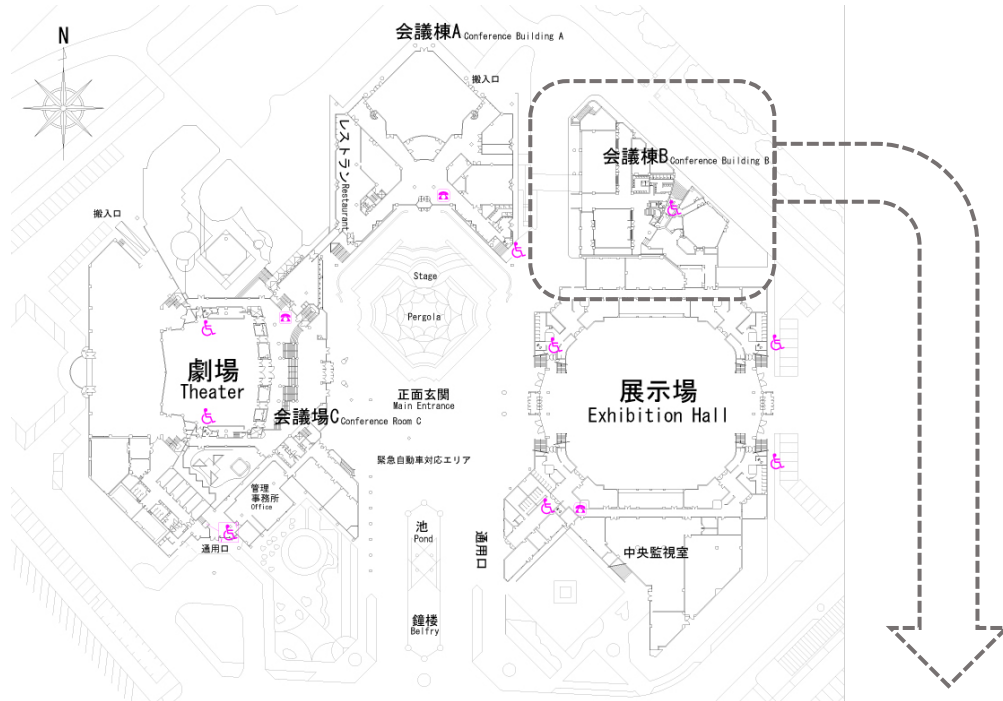
沖縄コンベンションセンター前バス停まで約40～60分(530円)-系統番号26番・43番・32番・55番(約40分)



タクシー・レンタカーをご利用の場合

- ・ 空港から約40分(距離40キロ)
- ・ 那覇市内から約30分(距離10キロ)

会場案内



第 21 回日本異種移植研究会 日程表

8:30	開場
8:45	世話人会議
9:30	開会式
9:40	セッション 1 「免疫」
10:15	セッション 2 「間葉系幹細胞」
10:50	レクチャー 演者：Hao Yin
11:50	ランチョン 演者：金達也
12:50	セッション 3 「臍島」
13:25	セッション 4 「脱細胞化・その他」
14:00	セッション 5 「免疫・再生」
14:45	シンポジウム
16:45	表彰式・閉会式

プログラム詳細

1. 世話人会議 8:45～9:30

2. 開会式 9:30～9:40

3. 一般演題 (各演題 8 分：発表 6 分、質疑応答 2 分)

セッション 1. 免疫 9:40～10:15

座長：山田 和彦 (鹿児島大学 医用ミニブタ・先端医療開発研究センター異種移植外科分野)

：高田 泰次 (愛媛大学大学院医学系研究科 肝胆膵・乳腺外科学講座)

[O1-1] 「ブタ・霊長類間異種免疫寛容を目指したハイブリッド胸腺の確立とその有用性」

鹿児島大学 医用ミニブタ・先端医療開発研究センター¹

関島光裕¹, 佐原寿史¹, 室川剛廣¹, 有吉勇一¹, 岩永健裕¹, 市成ゆりか¹,
山田和彦¹

[O1-2] 「IFN γ 誘導性 HLA-class II は CD63 を介して mTOR によって制御される」

愛知医科大学医学部 腎移植外科¹、薬剤部²、腎疾患・移植免疫学寄附講座³

前仲亮宏^{1,3}, 岩崎研太², 三輪祐子², 堀見孔星¹, 松岡裕¹, 斎藤寛子²,
小林孝彰¹

[O1-3] 「TIGIT によるマクロファージ誘導異種移植拒絶反応の抑制」

大阪大学大学院医学系研究科 小児成育外科学¹、明治大学 BIOINSTITUTE²

野口侑記¹, 前田晃¹, 児玉匡¹, 松浦玲¹, Pei-Chi Lo¹, 坂井理恵子¹, 高倉千裕¹,
米山知寿¹, 高間勇一¹, 上野豪久¹, 渡辺将人², 長島比呂志², 宮川周士^{1,2},
奥山宏臣¹

[O1-4] 「The novel immunosuppressant, PQA-18, suppresses macrophage differentiation/polarization and the subsequent T cell responses in xenotransplantation.」

大阪大学 大学院 医学研究科¹

広島大学 大学院 医歯薬保健学研究科²

明治大学 研究知財戦略機構³

羅颯洪¹, 前田晃¹, 児玉匡¹, 高倉千裕¹, 坂井理恵子¹, 野口侑記¹, 松浦玲¹,
江口寛¹, 松浪勝義², 奥山宏臣¹, 宮川周士^{1,3}

セッション2. 間葉系幹細胞 10:15～10:50

座長：小林 英司（慶應義塾大学医学部 臓器再生医学講座）

：小林 孝彰（愛知医科大学 腎移植外科）

[O2-1] 「ラット肝細胞はヒト羊膜上の培養で長期機能維持する」

長崎大学大学院 移植・消化器外科

高槻光寿、夏田孔史、前川恭一郎、日高匡章、足立智彦、大野慎一郎、江口 晋

[O2-2] 「Assessment of Similarities in Protein Expression between Human and Mouse Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells by a Proteome analysis through Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrophotometry」

Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus¹

Saifun Nahar¹, Yoshiki Nakashima¹, Chika Miyagi-Shiohira¹, Takao Kinjo¹, Hirofumi Noguchi¹, and Jiro Fujita¹

[O2-3] 「異種脱細胞化気管移植モデルにおける脂肪由来間葉系細胞の免疫抑制効果の検討」

Department of Surgical Oncology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences¹

Medical-Engineering Hybrid Professional Development Center, Nagasaki University²

久永真^{1,2}, 土谷智史¹, 松本桂太郎^{1,2}, 宮崎拓郎¹, 畑地豪¹, 渡邊洋之助¹, 土肥良一郎¹, 谷口大輔^{1,2}, 石井光寿^{1,2}, 溝口聡^{1,2}, 福田明子¹, 小畑智裕^{1,2}, 濱崎景子¹, 永安武^{1,2}

[O2-4] 「新規異種膵島移植法の検討～ADSC CellSaic とマイクロカプセルの併用～」

富士フイルム株式会社 R&D 統括本部

バイオサイエンス&テクノロジー開発センター¹、有機合成化学研究所²

古川諒¹, 中村健太郎¹, 望月勇輔², 竹上竜太², 山本武¹, 伊藤忠²

4. 特別講演

レクチャー 10:50～11:50

座長：野口 洋文（琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座）

「Experience of 42 cases of clinical islet transplantation in Shanghai Changzheng Hospital」

Shanghai Changzheng Hospital

Hao Yin

ランチョン 11:50～12:50

座長：剣持 敬（藤田医科大学医学部 臓器移植科）

「カナダに渡った膵島移植職人の20年」

Director, Clinical Islet Laboratory, University of Alberta

金 達也

5. 一般演題（各演題8分：発表6分、質疑応答2分）

セッション3. 膵島 12:50～13:25

座長：後藤 昌史（東北大学医学系研究科 移植再生医学分野）

：穴澤 貴行（京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科）

[O3-1] 「ブタ膵18時間保存による膵島分離成績の検討」

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座¹

濱田絵莉¹，衣斐菜々¹，玉城義仁¹，桑江一穂¹，中島義基¹，潮平知佳¹，
野口洋文¹

[O3-2] 「ブタ膵島分離における膵島純化溶液の検討」

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座¹

桑江一穂¹，衣斐菜々¹，濱田絵莉¹，玉城義仁¹，中島義基¹，潮平知佳¹，
野口洋文¹

[O3-3] 「ブタ膵島と外分泌組織の接着特性の検討とプロテオーム分析」

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座¹、岡山西大寺病院²、新潟大学 医歯学
総合研究科 口腔生命科学専攻 口腔健康科学³、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
泌尿器病態学⁴

中島義基¹，潮平知佳¹，小林直哉²，齊藤一誠³，渡部昌実⁴，野口洋文¹

[O3-4] 「Ethylene Vinyl Alcohol-packaging to Xenogeneic Islet Transplantation」

台北医学大学口腔工学科¹

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 臓器・器官形成応用分野²

楊凱強^{1,2}，角昭一郎²

セッション4. 脱細胞化・その他 13:25～14:00

座長：角 昭一郎（京都大学再生医科学研究所 器官形成応用分野）

：岸田 晶夫（東京医科歯科大学生体材料工学研究所 生体機能修復研究部門物質
医工学分野）

[O4-1] 「異種膵島移植臨床展開に向けた免疫寛容空間構築デバイスの開発」

京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科¹

京都大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌・栄養内科²

理化学研究所 健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム³

金沢医科大学 小児外科⁴

穴澤貴行¹，藤倉純二²，岩田博夫³，多田誠一郎¹，山根佳¹，井ノ口健太¹，

岡島英明⁴，上本伸二¹

[O4-2] 「ウシ血管を用いた脱細胞化小口径動脈グラフトの作製」

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 物質医工学分野¹、脱細胞化再生医療材
料学研究部門²

物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点³

橋本良秀^{1,2}，山下暁立²，張 永巍^{1,2}，船本誠一^{1,2,3}，岸田晶夫¹

[O4-3] 「脱細胞化骨格を用いた肝臓再生の試み」

京都大学医学研究科 外科

小島秀信，石井隆道，福光 剣，小木曾 聡，友藤克博，伊藤 孝，大島 侑，

川本浩史，南 貴人，宮内雄也，上本伸二

[O4-4] 「iBTA 再生医療における異種移植の可能性」

バイオチューブ株式会社

中山泰秀

セッション5. 免疫・再生 14:00～14:45

座長：山口 智之（東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター）

：大段 秀樹（広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 消化器・移植外科学）

[O5-1] 「ブタ B4GALNT2 遺伝子ノックアウトの検討」

大阪大学大学院医学系研究科 小児成育外科・臓器移植学¹

明治大学 農学部 生命科学科 発生工学研究室²

明治大学バイオリソース研究国際インスティテュート³

坂井理恵子¹，前田 晃¹，羅 颯洪¹，江口 寛¹，高倉千裕¹，米山知寿¹，

野口侑記¹，児玉 匡¹，松浦 玲¹，渡邊将人^{2,3}，長嶋比呂志^{2,3}，奥山宏臣¹，

宮川周士^{1,3}

[O5-2] 「SLA(swine leukocyte antigen)に対する抗体接着と凝固系亢進の関連性」

愛知医科大学 腎疾患・移植免疫学寄附講座¹, 愛知医科大学病院 薬剤部², 農業生物資源研究所³, プライムテック株式会社⁴, 日本大学 生物資源科学部⁵, 愛知医科大学 外科学講座 腎移植外科

三輪祐子¹, 岩崎研太¹, 前仲亮宏², 鈴木俊一³, 岩元正樹⁴, 大西彰^{3,5}, 小林孝彰⁶

[O5-3] 「ヒト化マウスを用いた抗 HLA 抗体産生機序の解明へ向けて」

広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科¹, 吉田総合病院²
田原裕之¹, 柳川泉一郎², 大段秀樹¹

[O5-4] 「異種間キメラ動物における自己寛容破綻のメカニズムの解明」

東京大学医科学研究所¹, 自然科学研究機構生理学研究所²,
スタンフォード大³

濱仲早苗¹, 後藤哲平², 平林真澄², 山口智之¹, 中内啓光^{1,3}

[O5-5] 「ブタ後腎バイオリアクターによる腎再生医療：マーモセット異種移植モデルの検討」

東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科¹

北里大学獣医学部獣医学科小動物第2外科学研究室²

明治大学 バイオリソース研究国際インスティテュート(MUIBR)³

慶應義塾大学医学部ブリヂストン臓器再生医学寄附講座⁴

松本啓¹, 藤本俊成¹, 岩井聡美², 松成ひとみ³, 斎藤弥積¹, 高村毅¹,

高瀬健太郎¹, 田尻進¹, 山中修一郎¹, 横手伸也¹, 福井亮¹, 小林英司^{3,4},

長嶋比呂志³, 横尾隆^{1,3}

6. シンポジウム 14:45～16:45 (各演題 20 分：発表 17 分、質疑応答 3 分)

座長：上本 伸二 (京都大学医学部 肝胆膵・移植外科)

：宮川 周士 (大阪大学大学院 医学研究科 小児成育外科)

[S-1] 「免疫隔離細胞デバイスの開発」

東北大学医学系研究科 移植再生医学分野¹

東北大学医学系研究科 消化器外科学分野²

後藤昌史^{1,2}, 稲垣明子¹

[S-2] 「細胞治療の非臨床研究におけるブタ免疫抑制法」

国立成育医療研究センター 先端医療開発室¹

慶応義塾大学医学部 臓器再生医学講座²

絵野沢 伸^{1,2}, 小林英司²

[S-3] 「異種移植研究の新たな展開：ブタを使ってヒト由来細胞を育てる」

慶応義塾大学 臓器再生医学講座¹, 琉球大学 再生医学講座²

小林英司¹, 絵野沢 伸¹, 野口洋文²

[S-4] 「What additional genes should be altered and what immunologic strategy should be included for successful clinical xeno transplantation」

鹿児島大学 医用ミニブタ・先端医療開発研究センター、CCTI/Department of Surgery, Columbia University Medical Center

山田和彦, 佐原寿史, 関島光裕, 渡邊洋之助, 有吉勇一, 竹内和博

[S-5] 「当科における進捗状況～異種移植におけるミエロイド細胞誘導拒絶反応とその抑制」

大阪大学医学研究科 小児成育外科

前田 晃, 羅 颯, 坂井理恵子, 高倉千裕, 松浦 玲, 児玉 匡,

野口侑記, 米山知寿, 江口 寛, 奥山宏臣, 宮川周士

[S-6] 「会議報告 The WHO Global Consultation on Regulatory Requirements for Xenotransplantation Clinical Trials, in Changsha」

大阪大学大学院 医学研究科、明治大学 研究・知財戦略機構

宮川周士

7. 表彰式・閉会式 16:45～17:00

特別講演

(レクチャー・ランチョン)

Experience of 42 cases of clinical islet transplantation in Shanghai Changzheng Hospital

Shanghai Changzheng Hospital

Hao Yin

From December 2016 to present, we have performed 42 cases of clinical islet transplantation to 37 patients (5 patients received second transplantation). The purity and vitality are above 50% and 80%, respectively. All the pancreases are from deceased donation. The average follow-up period is 7.6 months, and 22 patients (62%) are completely insulin-independent. The average Hb1Ac decreased from $7.63\pm 4.53\%$ to $5.30\pm 1.43\%$, while the increase of average C peptide is 1.34nmol/L.

カナダに渡った膵島移植職人の 20 年

Director, Clinical Islet Laboratory, University of Alberta

金 達也

私は 1993 年より奈良県立医科大学にて、ブタ-ヒト間の異種膵島移植を念頭においた基礎研究を行ってきました。成熟ブタからの膵島単離法の確立、超急性拒絶反応の制御の必要性の有無、大動物を用いたマイクロカプセル化膵島移植実験等が主な研究内容でした。その後、1998 年にカナダ・アルバータ大学に移り、新生児ブタを用いた膵島移植研究を行う傍ら、臨床同種膵島移植プログラムの一員としてエドモントン・プロトコールの開発に携わりました。当初インスリン・フリーとなった 7 人の患者中、一人は 20 年経った今もインスリン注射から解放されています。

この 20 年間で 600 回以上の臨床膵島移植を施行してきました。この間、常に進化を迫り、種々の面でプロトコール変革に力をいれてきました。施行した臨床試験は 22 件を数えます。現在、以下の 3 つの臨床試験が進行中です。① ヒト ES 細胞由来ベータ細胞の皮下移植 (An open-label, first-in-human, study evaluating the safety, tolerability, and efficacy of VC-02 combination product in subjects with type 1 diabetes mellitus and hypoglycemia unawareness) ② 発症早期の 1 型糖尿病患者に対する自己免疫置換と自己ベータ細胞の再生 (Stem cell mobilization and immunologic reset in type 1 diabetes) ③ 同種膵島移植後のポリクローナル制御性 T 細胞自家移植 (Polyclonal regulatory T cell immunotherapy in islet transplantation)

一方、アルバータ大学ではブタ-ヒト間の異種膵島移植を目指して準備が進められています。ブタ膵島のなかでも新生児ブタをソースとした膵島に焦点をあて、古くから研究されてきた成果が認められ、新生児ブタ膵島製造に特化したクリーンルームを備えた Cell Processing Facility が昨年開設されました。

カナダ・アルバータ大学では同種膵島移植が一部の糖尿病患者に対する標準治療となっておりますが、まだまだ改善の余地があり、さらなる治療成績向上に取り組まなければなりません。将来展望としては同種膵島移植のみにこだわるのではない、幅広い視点からみた糖尿病根治を可能とする新たな治療が開発されることが望まれます。

シンポジウム

S-1. 免疫隔離細胞デバイスの開発

東北大学医学系研究科 移植再生医学分野¹

東北大学医学系研究科 消化器外科学分野²

後藤昌史^{1,2}, 稲垣明子¹

膵島移植は低侵襲という絶対的魅力を有するが、本来期待されていた方向と異なり、現在臨床現場では免疫抑制剤を増量する傾向が見受けられる。免疫抑制剤の軽減あるいは回避は膵島移植のみならず移植医療全体の究極の課題であるが、細胞加工が施せるという点で、膵島移植のような細胞移植はよりその潜在的可能性を秘めていると考えられる。我々はこの目的を達成するため、高分子化合物の新規加工技術を導入し、マクロタイプの免疫隔離細胞包埋デバイスを基盤とする免疫抑制剤不要プロトコルの樹立に取り組んでいる。これまでの検討では、まず独自に開発した簡易的免疫隔離機能スクリーニング手法を用い、高分子化合物の至適化を行った。その上で、通常約1週間で全て拒絶される異種ラット膵島グラフトを包埋した細胞デバイスをマウスに埋め込み、免疫抑制剤不使用下において1年以上糖尿病を治癒させる事に成功した。糖負荷試験においてもグラフト機能は極めて良好であり($p < 0.0001$)、長期生着例においても抗ドナーIgG抗体は上昇せず、レシピエントの感作を効果的に制御し得る事が判明した($p < 0.001$)。また興味深いことに、免疫不全マウスをレシピエントに設定した系においても、細胞デバイス使用群の方が細胞デバイス不使用群よりも有意に高い生着率を示し(100% vs 13%)、開発デバイスが効果的に原始免疫も制御すると共に優良なスキャホールドとしての特性も兼ね備えていることが判明した。さらにこのプロトコルを実際に実用化していく上では、入れ替えによる追加移植が容易であり、異種グラフト感染が発生しても取り出しが可能である皮下こそが最適な移植部位候補である。我々は、新生血管に乏しい皮下へのデバイス移植に有効な手法として、RGD基を豊富に含有するリコンビナントペプチドの前留置をこれまでに報告してきたが(*Transplantation* 2018)、今回さらに脂肪由来間葉系幹細胞を付着させる上乘せ効果についても知見を得ることができたため報告する。

S-2. 細胞治療の非臨床研究におけるブタ免疫抑制法

国立成育医療研究センター 先端医療開発室¹
慶応義塾大学医学部 臓器再生医学講座²

絵野沢 伸^{1,2}, 小林英司²

【目的】細胞治療の非臨床研究において、大型実験動物としてブタを用いることが多くなった。そこで、文献および自験例から、ブタを用いたヒト由来組織・細胞移植実験時の免疫抑制プロトコールを紹介したい。

【方法】ヒト由来細胞として、間葉系幹細胞、幹細胞由来心筋細胞、肝実質細胞、株化肝細胞、ES細胞由来網膜組織をブタ（家畜ブタ、ミニブタ、Yucatan ミニブタ、マイクロミニブタ）に移植した報告および自験例を解析した。

【結果】初期には tacrolimus 単剤 0.5mg/kg/day 筋肉内投与で、ヒト肝細胞株を移植し、肝障害を軽減したという報告がある。ただ、血中ヒトアルブミン値は、移植後 2 日目に上昇後、7 日目にほぼ消失したことから、細胞の長期生着はみられない。心筋梗塞巣への間葉系幹細胞や心筋シート移植では、移植 3 日前から cyclosporine 10mg/kg×2 回/day を経口投与、あるいは移植 5 日前から tacrolimus 0.75mg/kg/day、mycophenolate mofetil (MMF) 500mg/body/day、prednisolone 20mg/body/day を投与し、移植後 8 週間の実験を完遂している。Yucatan ミニブタへの網膜組織移植では、混餌自由摂取のため、著者も認めるように免疫抑制効果はほぼないに等しい。しかしながら 3 ヶ月後に移植細胞が認められた。演者らは、tacrolimus、MMF の 2 剤を、術前は混餌で、術後は胃瘻経由で投与することにより、安定したトラフ値を維持し、ヒト肝実質細胞、iPS 細胞由来肝細胞の生着を確認した。

【結論】ヒト由来細胞のブタ実験における免疫抑制法は tacrolimus と MMF の経消化管投与を基本とし、状況によって術後短期間の steroid 投与を考慮する。

S-3. 異種移植研究の新たな展開：ブタを使ってヒト由来細胞を育てる

慶應義塾大学 臓器再生医学¹、琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座²

小林英司¹， 絵野沢 伸¹， 野口洋文²

Research in the field of human stem cells has advanced recently; however, it is still difficult to generate the human tissue/organ in vitro alone. In this lecture, the author introduced that pig as an in vivo bioreactor and human iPS derived- progenitors were transplanted into the pig spleen.

The splenic artery and vein were cannulated and separated from the systemic circulation, so that temporary extracorporeal circulation could be performed. As a pretreatment to attenuate spleen immune-cell activity, perfusion with mitomycin C was performed, followed by a thorough rinsing. Then, human hepatocytes or hepatocyte progenitor cells derived from human iPS cells were transplanted using this route, after which splenic arteriovenous blood flow was resumed under the triple immunosuppressive drug administration.

When the human mature hepatocytes were transplanted, human serum albumin level was 72.9 ng/ml in the first week after transplantation, after which, although it slightly decreased, it could be detected for one month after transplantation. The macroscopic findings of the spleen after one month of transplantation revealed tissues that can be considered as the transplanted hepatocytes. In the human albumin immunostaining and HE (hematoxylin and eosin) staining, the cells considered to be hepatocytes were positive for human albumin. It is worthwhile to saying that using iPS derived-hepatic progenitor cells, human albumin was not detected in the pig serum at the first week but done from 2 weeks after transplantation and its levels gradually increased up to 1 month. Pathological findings showed well-constructed hepatocytes and bile duct like formation, which comprised anti-human albumin and vimentin positive cells.

We would like to introduce a novel approach for xenotransplantation that pig spleen can be considered as an excellent location for human progenitor transplantation and engraftment.

S-4. What additional genes should be altered and what immunologic strategy should be included for successful clinical xeno transplantation

鹿児島大学 医用ミニブタ・先端医療開発研究センター、CCTI/Department of Surgery, Columbia University Medical Center

山田和彦, 佐原寿史, 関島光裕, 渡邊洋之助, 有吉勇一, 竹内和博

Size, availability and the physiologic, immunologic and anatomic similarities between swine and humans have made this species the most attractive potential donor for clinical xenotransplantation (XTx). However, until genetic modification of swine became possible, survivals of pig organs in primates were measured in days to weeks, despite the use of potent immunosuppressants and absorption of natural antibodies. Over the past 15 years, the use of knock-out and transgenic (Tg) swine donors has allowed marked increases in survival of xenograft organs, with heterotopic hearts surviving for over 2 years and life-supporting kidneys for greater than 6 months in baboon recipients. More recently, the life-supporting porcine hearts have achieved greater than 6 months survival of baboon recipients. It is clear that this remarkable progress has been largely due to genetic engineering of the donors. It is now important to address: (1) what additional genes should be altered; (2) where these gene(s) should be expressed; and (3) what negative effects may be caused by expression of human genes in porcine grafts. Data which provide some insight for answering these questions are now available from the recent experience of our own and other groups using GalT-KO pig donors expressing hCD47 with or without other transgenes in pig-to-baboon baboon solid organ XKTx models. Furthermore, this presentation will address and discuss what immunologic strategy should be added for successful clinical xeno transplantation.

S-5. 当科における進捗状況～異種移植におけるミエロイド細胞誘導拒絶反応とその抑制

大阪大学医学研究科 小児成育外科

前田 晃, 羅 颯, 坂井理恵子, 高倉千裕, 松浦 玲, 児玉 匡,
野口侑記, 米山知寿, 江口 寛, 奥山宏臣, 宮川周士

現在, 世界的に移植用臓器の不足が深刻化しており、当研究室でも異種移植を臨床応用するため基礎的な研究を行ってきた。様々な施設で遺伝子改変技術を利用した遺伝子改変ブタの開発研究が進められているが、当研究室では特にマクロファージや好中球による拒絶反応にフォーカスを当てて研究を進めている。異種移植においてマクロファージが拒絶反応に関与し、重要な役割を果たしていることが知られている。一方でマクロファージは様々な抑制性レセプターを発現しており、我々は抑制性レセプターを利用したマクロファージ誘導拒絶反応の抑制方法について検討を重ねてきた。

現在までに HLA-E,G や CD200, Surfactant Protein(SP)-D などの遺伝子をブタ細胞に導入することによりマクロファージによる拒絶反応を抑制できることを示してきた。また好中球による拒絶反応に対しヒト CD31 遺伝子導入が有効であることを明らかにした。さらに Myeloid Derived Suppressor Cells(MDSC)を末梢血単球より分化させ、異種移植拒絶反応を抑制することを明らかにした。これまでの成果を紹介するとともに、今後の問題点について議論したい。

S-6. 会議報告

The WHO Global Consultation on Regulatory Requirements for Xenotransplantation Clinical Trials, in Changsha

大阪大学大学院 医学研究科、明治大学 研究・知財戦略機構

宮川周士

2018年12月12-14日、長沙(中国)で行われたWHOの会議に呼ばれましたので、私が認識できました範囲で内容を報告させていただきます。

Convenor: World Health Organization

Host: Central South University
The Transplantation Society

Co-Organizers : The International Xenotransplantation Association
The Third Xiangya Hospital of Central South University

Program Committee

Program Chair Prof. Wayne Hawthorne
Prof. Peter Cowan
Prof. Leo Buhler

Local Organizing Committee

Prof. Wei Wang
Prof. Shounan Yi

この他、Invited speaker 19名、Invited participants 7名です。

会議自体は、12日、WHO代表、IXA会長、中南大学学長、病院長、湖南省副知事、等の沙汰で始まり、現時点での各臓器、細胞の前臨床試験の成果が中心に紹介され、中国・欧州・USA、等での研究施設、および臨床への準備状態が報告されました。続いて、遺伝子編集ブタの進展度、感染症対策も紹介されました。

2日目は、FDA(USA)、中国CDC、中国Academy of Sciences、EMA(European Medical Agency)の報告があり、次にIXA-FDA 2017の確認事項、WHOの倫理姿勢、前回(Geneva 2011)での確認事項等が報告され、午後には6班に分かれてThe Changsha Communique 2018を検討しました。

3日目は、WHOのProf. Jose Nunezを座長として、今回のCommuniqueをまとめる作業を行いました。現時点で最終的な作業は終了していませんが、内容としては特に大きな変化は無いと認識しております。

一般演題

01-1. ブタ・霊長類間異種免疫寛容を目指したハイブリッド胸腺の確立とその有用性

鹿児島大学 医用ミニブタ・先端医療開発研究センター¹

関島光裕¹, 佐原寿史¹, 室川剛廣¹, 有吉勇一¹, 岩永健裕¹, 市成ゆりか¹, 山田和彦¹

【背景・目的】これまで我々は、同種ならびに異種移植でのドナーブタ胸腺移植による免疫寛容誘導の有効性を示してきた。本研究はドナーブタ胸腺内での胸腺細胞の負の選択のみならず正の選択促進を目的にサル胸腺細胞共存ブタ胸腺（ハイブリッド胸腺）作成を行った。

方法) 我々のブタ-霊長類間異種臓器移植プロトコールに準じ、サル胸腺摘出後3週間以内でのハイブリッド胸腺作成を想定し、SLA 確立クラウン系ミニブタ胸腺にサル胸腺細胞を移植し、その生着の病理学的評価ならび免疫学的評価を行った。免疫抑制は、ブタ・サル間において、T ならび B 細胞免疫を確認したことから術前脱感作療法を行った。実験群を2群に分け、Group 1 (n=3)は、サル CD2 陽性胸腺細胞除去した胸腺上皮細胞移植、Group 2 (n=3)は CD2 陽性細胞除去を行わない胸腺細胞移植とした。結果) CD2 depletion を行ったサル胸腺細胞移植を行なった Group 1 では、移植された胸腺上皮細胞がブタ胸腺内でネットワークを作成し、経時的な MLR 評価において donor unresponsiveness を、また抗ドナー抗体反応が抑制されていることが確認された。Group 2 では、移植胸腺細胞の病理学的拒絶を確認し、サル胸腺上皮細胞の生着はわずかであった。また、MLR ならびに抗ドナー抗体反応からその感作が確認された。

考察) 異種移植において組織特異性抗原への負の選択、抑制 T 細胞を含む T 細胞分化促進（正の選択）が期待されるブタ・霊長類ハイブリッド胸腺のブタ体内での作成に世界で初めて成功した。今後、hybrid thymus を用いた胸腺移植を併用した発展型異種免疫寛容戦略をブタ・霊長類間臓器移植を推進する。

O1-2. IFN γ 誘導性 HLA-class II は CD63 を介して mTOR によって制御される

愛知医科大学医学部 腎移植外科¹、薬剤部²、腎疾患・移植免疫学寄附講座³

前仲亮宏^{1,3}、岩崎研太²、三輪祐子²、堀見孔星¹、松岡裕¹、斎藤寛子²、
小林孝彰¹

【目的】近年ヒト MHC に対する抗体がブタ SLA に交差反応を示し、異種臓器に対する拒絶反応となる危険性が示唆されている。本研究では、MHC の発現メカニズムから、その発現を減少させる薬剤の探索を行い、移植後の免疫抑制剤の一助となることを目的としている。これまでに、エベロリムス (EVR)、フルバスタチン (FLU)、プレドニゾロン (PRD) には誘導性の HLA-DR の抑制効果があると発表してきた。今回、その抑制機序についての検討を報告する。

【方法】細胞は EA.hy926 を用いた。細胞を様々な薬剤存在下、IFN- γ で処理し、HLA-DR を発現誘導させた。蛋白質発現はフローサイトメトリー、イメージングサイトメーターで、mRNA は qRT-PCR で測定した。ノックアウト細胞の樹立には CRISPR system を用いた。

【結果】FLU は HLA-DR の、PRD は CIITA の mRNA を抑制した一方で、EVR は抑制しなかった。EVR は細胞内外のたんぱく発現を制御した。EVR、FLU は HLA の翻訳後制御に関わるとされるテトラスパニンを抑制した。CD63 ノックアウト細胞では EVR の効果が減弱した。

【結論】HLA-DR と CD63 の関係については、さらなる機序の解明や生体における効果など、慎重な検討は必要である。今後は本結果を追求すると共に、ブタ細胞においても同様の機構が成り立ちうるかどうかの検討を進めていく。

01-3. TIGIT によるマクロファージ誘導異種移植拒絶反応の抑制

大阪大学大学院医学系研究科 小児成育外科学¹、明治大学 BIOINSTITUTE²

野口侑記¹，前田晃¹，児玉匡¹，松浦玲¹，Pei-Chi Lo¹，坂井理恵子¹，
高倉千裕¹，米山知寿¹，高間勇一¹，上野豪久¹，渡辺将人²，長島比呂志²，
宮川周士^{1,2}，奥山宏臣¹

【背景】異種移植の拒絶でマクロファージが重要な役割を担っている可能性がある。TIGIT は，NK 細胞や T 細胞に活性化シグナルを伝達する CD226 と競合してリガンドである CD155 に結合し，その作用を阻害する。その結果，IFN γ 産生の抑制と IL-10 産生の亢進を促すことでそれらの細胞を抑制することが知られている。また，CD155 は，その発現細胞内に抑制シグナルを伝達することから，TIGIT は CD155 を介して相手の細胞も抑制することができると考えられる。我々はマクロファージ上に CD155 が発現していることを確認したことから，TIGIT のマクロファージに対する抑制効果の可能性を調査した。

【方法】マクロファージ上の TIGIT 及び CD155 の発現を FACS で評価した。その後，ブタ血管内皮細胞(SEC)に抑制性細胞内ドメインを取り除いた TIGIT 遺伝子を導入し，細胞表面に TIGIT を発現する SEC/TIGIT を作成した。そして，マクロファージの SEC/PCXN(Control)と SEC/TIGIT に対する細胞傷害活性の違いを WST-8 法，及び Counting beads 法により評価した。

【結果】マクロファージは分化の違いにより，M1 では CD155 だけを発現し，M2 では CD155 だけでなく TIGIT を発現していた。WST-8 による SEC/TIGIT のマクロファージに対する細胞傷害の評価では，SEC/PCXN と比較して傷害が抑制されており，Counting beads 法による評価でも同様の効果が示された。

【結論】TIGIT はマクロファージの活性化を抑制する可能性が示唆された。NK 細胞や T 細胞に対する抑制効果を含め，TIGIT は異種移植における免疫反応の抑制に有用である可能性があると考えられる。

O1-4. The novel immunosuppressant, PQA-18, suppresses macrophage differentiation/polarization and the subsequent T cell responses in xenotransplantation.

大阪大学 大学院 医学研究科¹

広島大学 大学院 医歯薬保健学研究科²

明治大学 研究知財戦略機構³

羅姍淇¹, 前田晃¹, 児玉匡¹, 高倉千裕¹, 坂井理恵子¹, 野口侑記¹, 松浦玲¹, 江口寛¹, 松浪勝義², 奥山宏臣¹, 宮川周士^{1,3}

【Purpose】

Innate immunity plays a major role in xenograft rejection. However, immunosuppressants that are currently in use mainly focus on acquired immunity inhibition. Therefore, a novel immunosuppressant suitable for xenograft continues to be needed. Prenylated quinolinecarboxylic acid (PQA)-18, a unique PAK-2 inhibitor, has been reported to exert an immunosuppressive function on T cells. Hence, we investigated the efficacy of PQA-18 on macrophages in xenotransplantation.

【Method】

Firstly, the target cells were cultured in the presence of PQA-18 and the cell viability was examined by WST-8 assay. To assess the efficacy of PQA-18 on M1 and M2 macrophage differentiation, the human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were cultured with GM-CSF or MCSF in presence or absence of PQA-18. The differentiation/polarization markers, HLA-DR/CCR7 expression of macrophages were detected by FACS. The efficacy of PQA-18 on macrophage-dependent T cell proliferation in xenotransplantation was also examined by a mixed lymphocyte reaction. The CFSE labeled-human PBMCs were co-cultured with mitomycin C treated-SECs in presence or absence of PQA-18. T cell proliferation was assessed by measuring the fluorescence intensity of CFSE expression in the CD3 positive cells.

【Results】

PQA-18 has no toxicity to target cells on the concentrations of 5 μ M. PQA-18 suppressed the HLA-DR and CCR7 expression in M1 macrophages. In contrast, PQA-18 failed to suppress the HLA-DR expression in M2 macrophages. Furthermore, PQA-18 also showed a strong suppression on T cell proliferation in MLR assay.

【Conclusion】

PQA-18 has the potential to suppress the macrophage-mediated xenogeneic rejection.

02-1. ラット肝細胞はヒト羊膜上の培養で長期機能維持する

長崎大学大学院 移植・消化器外科

高槻光寿, 夏田孔史, 前川恭一郎, 日高匡章, 足立智彦, 大野慎一郎, 江口晋

【目的】羊膜は本来母体にとって異物であるはずの胎児を包んでいる膜であるが、臨床においては角膜疾患などに同種グラフトとして使用されている。我々は、ヒト羊膜を培養器材として用い、ラット肝細胞を培養して肝細胞特異的機能が維持されるか否かを検討した。

【方法】当院でインフォームド・コンセントを得られた予定帝王切開症例から出産の際に羊膜を胎盤より分離採取、細切し凍結保存を行った。7週齢のWistar雄性ラットから分離した初代肝細胞を、羊膜を解凍後に貼付したデッシュ(羊膜上皮側：E、緻密層側：C)に 5×10^4 cells/cm²ずつ播種した。対照群を羊膜なし(コラーゲンコートデッシュ：N)、肝細胞なし(羊膜のみ：A)とした(それぞれn=5)。播種後2・6・14・28日目の培地を回収し、培地中のラットアルブミン値および肝細胞増殖因子(HGF)をELISAで測定した。

【結果】2・6・14・28日目の培養上清中アルブミン値($\mu\text{g}/1 \times 10^5$ cells/day)はそれぞれE：6.99、11.15、9.06、10.76、C：10.17、16.20、17.53、16.51、N：11.50、4.80、2.08、0.49、0.19、A：0、0、0、0、であった。EとCの比較ではいずれの時点でもCのアルブミン値が有意に高値だった($p < 0.05$)。HGFは、いずれの群も経時的に低下しており、EとCの比較では有意差を認めなかった。肝細胞の形態を観察すると、Eでは細胞は塊状となり、Cでは緻密層に貼りつくように平板状の形態を呈していた。

【結論】ヒト羊膜上での培養で、異種であるにもかかわらずラット肝細胞のアルブミン産生能を1カ月維持された。HGFは経時的に低下していることより肝細胞の機能維持には関与していないと推測された。緻密層側の方が羊膜上皮側よりも常にアルブミン高値であり、肝細胞の形態に相違を認めた。

O2-2. Assessment of Similarities in Protein Expression between Human and Mouse Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells by a Proteome analysis through Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrophotometry

Saifun Nahar¹, Yoshiki Nakashima¹, Chika Miyagi-Shiohira¹, Takao Kinjo¹, Hirofumi Noguch¹, and Jiro Fujita¹,

Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus¹

Purpose: MSCs derived from adipose tissue known as adipose derive mesenchymal stem cells (ADSCs) have multi-lineage differentiation ability, immunosuppressive properties, and paracrine activities to play an effective role in tissue regeneration. Comparison between mouse and human ADSCs through their expressed protein components and their respective function would provide useful information before designing clinical application. **Method:** Isolated mouse ADSCs in our laboratory and commercially available human ADSCs were characterized by cell proliferation and differentiation ability. Quality of mouse and human ADSCs was assessed by fluorescein-coupled antibodies against CD90, CD 34, CD 44, and CD45 through flow cytometry and immunofluorescence staining. Afterward, human ADSCs for clinical use and mouse ADSCs for basic research have been characterized by their expressed protein components analyzed by liquid chromatography with tandem mass spectrophotometry (LC-MS/MS). **Results:** In our study, approximately highly expressed 500 proteins (emPAI >10) were identified; 417 expressed in hADSCs and 413 expressed in mADSCs. Out of 417 proteins, 4% were exclusively expressed by hADSCs and out of 413 proteins, 3% were specific to mADSCs. Thus, 92% of the highly expressed proteins were found similar in both mouse and hADSCs. Afterward, gene ontology analysis was performed to elucidate biological functions of mouse and human ADSCs expressed proteins. In respect of biological processes, among the cell adhesion related proteins, eight proteins were expressed by hDSCs (TLN2, COL6A3, CALD1, FAP, STAT1, ENG, DPP4, and CTTN) and one protein was expressed by mADSCs (Esys2) and among the locomotion related proteins, six proteins (FAP, STAT1, ENG, DPP4, CTHRC 1, and CTTN) and nedd4 were expressed by human and mouse ADSCs respectively. With regard to cellular components, nine proteins by hADSCs (TLN2, COL6A3, CALD1, ANPEP, FAP, MME, ENG, DPP4, and CTTN) and four proteins by mouse ADSCs (Hmgcs1, Esys2, Nedd4, and NEDD4L) were identified in plasma membrane. **Conclusions:** Our results showed high similarity in expressed proteins by human and mouse ADSCs. In addition, insignificant differences between human and mouse ADSCs were observed in cell membrane and cell adhesion proteins on gene ontology analysis, which are related to isolation process of ADSCs.

O2-3. 異種脱細胞化気管移植モデルにおける脂肪由来間葉系細胞の免疫抑制効果の検討

Department of Surgical Oncology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences¹

Medical-Engineering Hybrid Professional Development Center, Nagasaki University²

久永真^{1,2}, 土谷智史¹, 松本桂太郎^{1,2}, 宮崎拓郎¹, 畑地豪¹, 渡邊洋之助¹, 土肥良一郎¹, 谷口大輔^{1,2}, 石井光寿^{1,2}, 溝口聡^{1,2}, 福田明子¹, 小畑智裕^{1,2}, 濱崎景子¹, 永安武^{1,2}

【目的】我々の施設では異種脱細胞骨格を用いた気道再建を目指しているが、完全に異種抗原を除去することは困難である。脂肪由来間葉系細胞(adipogenic stromal cells; ASC)は他由来の幹細胞と比較して低侵襲で多量に採取可能であり、私たちの施設では、ASCによるラット肺移植モデルでの免疫抑制効果を示してきた(Watabnabeら J Surgical Res. 2018)。今回は、ASCの異種脱細胞骨格気管移植時の免疫抑制効果を検討した。

【対象及び方法】豚(LWD)脱細胞化気管支をそのままラット(Brown Norway)へ気管移植した。その際同モデルへ 1×10^6 のASCを投与し(n=5)、以下の群での7日後,21日後の病理学的、血清学的検討を行った。A群；脱細胞化なしの豚気管支、B群；脱細胞化施行群、C群；脱細胞化+ASC投与群。

【結果】HE染色ではA群では炎症反応浸潤を伴う強い急性拒絶反応を認めたB群においても中等度の拒絶反応を認めたが、C群では他の2群に比べ拒絶反応は軽度であった。免疫染色ではC群においてはCD8陽性T細胞が優位に減少しており、CD163陽性のM2マクロファージはC群において優位に増加していた。血清学的検査においてC群で炎症抑制系サイトカインであるIL-10の低下を認めた。現在その他免疫染色およびサイトカインを検証中である。

【考察】異種脱細胞化気管の移植モデルにおいて、ASCの投与によりIL-10の上昇を認め、M2マクロファージの増加およびCD8陽性T細胞の減少に寄与していることが示唆された。

O2-4. 新規異種膵島移植法の検討～ADSC CellSaic とマイクロカプセルの併用～

富士フイルム株式会社 R&D 統括本部

バイオサイエンス&テクノロジー開発センター¹、有機合成化学研究所²

古川諒¹，中村健太郎¹，望月勇輔²，竹上竜太²，山本武¹，伊藤忠²

【目的】異種の膵島移植では、免疫拒絶への対策として免疫隔離膜という技術が知られている。免疫隔離膜にはマクロデバイス、マイクロカプセル等の分類があるが、血流不足による内部の栄養不足、繊維形成や被包化による内部の壊死、摘出の困難さといった多数の課題が存在し、未だ開発に成功していない。一方で、我々は細胞移植技術として CellSaic（セルザイク）という技術を開発してきた。セルザイクとした 間葉系幹細胞では血管誘導効果が増強され、膵島と共移植した場合には膵島の生着を高めることが明らかとなっている（既報）。そこで今回、我々はマクロデバイス、マイクロカプセル、セルザイクの3つの構成を組み合わせて異種膵島移植への活用を試みた。

【方法】膵島移植用マクロデバイスを Balb/c マウスの腹腔内に埋植した。埋植 3 週後にストレプトゾトシン(250mg/kg)を投与し糖尿病を発症させた。埋植 4 週間後にデバイスを開口し、デバイス内部に以下の群構成にて各種サンプルを封入移植した。

①群：Wistar ラット膵島、②群：アルギン酸マイクロカプセル化ラット膵島、③群：アルギン酸マイクロカプセル化ラット膵島+ADSC セルザイク

【結果】サンプル移植後 4 週間の血糖値推移を観察したところ、血糖値制御期間は③群(アルギン酸マイクロカプセル化ラット膵島+ADSC セルザイク)が最も長く、次に②群(アルギン酸マイクロカプセル化ラット膵島)が長く、最も短かったのが①群(無処理ラット膵島のみ)であった。尚、4 週時点で血糖値の正常値

(200mg/dL) を維持できていたのは③群 (アルギン酸マイクロカプセル化ラット膵島+ADSC セルザイク) のみであった。

【結論】デバイス、マイクロカプセル、セルザイクという 3 つの構成が膵島異種移植に有用なことが示唆された。

03-1. ブタ膵 18 時間保存による膵島分離成績の検討

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座¹

濱田絵莉¹, 衣斐菜々¹, 玉城義仁¹, 桑江一穂¹, 中島義基¹, 潮平知佳¹,
野口洋文¹

【目的】われわれは以前に、膵保存に MK 溶液を用いた場合 UW 溶液を用いた場合に比べ、膵島分離成績が有意に向上することを報告した (Am J Transplant 2006)。MK 溶液は、(1)コラゲナーゼの活性抑制効果が低い、(2)トリプシン抑制効果が高い、の 2 点が UW 溶液に比べて優れている点である。しかしながら以前の検討は臓器保存時間が 120-150 分と短いため、長時間保存を行った場合の検討も必要である。今回われわれはこの 2 種類の溶液を用いて 18 時間膵保存を行い、膵島分離成績を検討した。

【方法】MK 溶液は、細胞外液に近い電解質組成を有し、細胞保護として trehalose を、トリプシン抑制を目的として ulinastatin を使用しているのが特徴である。ブタ膵島分離において、MK 保存群 (n=11) と UW 保存群 (n=11) の 2 群にわけ、膵島収量、ATP 量、移植成績、コラゲナーゼ抑制効果、トリプシン抑制効果を検討した。

【結果】膵島収量は UW 群に比べ MK 群が有意に多かった。ATP 量、移植成績に 2 群間で有意な差はなく、本研究での膵島分離成績の向上が、細胞へのエネルギー供給である可能性が低いものと考えられた。膵島分離中のトリプシン活性を測定したところ、UW 群に比べ MK 群は膵消化時のトリプシン活性が有意に抑制されていた。また、MK 溶液はほとんどコラゲナーゼ活性を抑制しないことも確認された。

【結論】膵島分離において、18 時間膵保存の場合も MK 溶液を用いた方が、膵島収量が向上することが確認された。膵島収量が向上した理由は、膵保存・膵島分離時のトリプシン活性を抑制することにより細胞障害を抑制していることと、コラゲナーゼ活性をほとんど抑制しないためであると考えられた。

03-2. ブタ膵島分離における膵島純化溶液の検討

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座¹

桑江一穂¹, 衣斐菜々¹, 濱田絵莉¹, 玉城義仁¹, 中島義基¹, 潮平知佳¹,
野口洋文¹

【目的】膵島移植における膵島純化作業は、移植する組織量を減少させ門脈塞栓などのリスクを減少させることが可能となる。今回われわれは、純化溶液としてIU溶液とIK溶液の比較をボトル純化法により検討した。

【方法】IU溶液はUW溶液にiodixanolを加えて作製し、IK溶液はmodified ETK溶液（MK溶液：ETK溶液にulinastatinを添加したもの）にiodixanolを加えて作製した。膵島純化前に組織比重を測定後、iodixanolによって高比重純化溶液の比重を変化させ純化を行った。純化膵島の評価系としてStimulation Index、ATP量、マウスへの膵島移植を行った。

【結果】5回のブタ膵島分離を行い、純化前の平均膵島数が $651,661 \pm 157,719$ IEであった。消化組織を2つに分け、IU溶液およびIK溶液で純化を行ったところ、IU溶液では $276,719 \pm 64,342$ IE（純化効率 $85.1 \pm 4.3\%$ ）、IK溶液では $271,875 \pm 47,910$ IE（純化効率 $89.5 \pm 7.8\%$ ）が回収された。in vitro、in vivoアッセイでは、両群間に有意差は認められなかった。

【結論】IK溶液とIU溶液と同等の純化溶液として使用可能であると考えられた。われわれは過去に膵島分離前の膵保存においてUW溶液よりもMK溶液のほうが優れていることを報告しているが、MK溶液の利点は（1）トリプシン抑制剤が入っていること、（2）コラゲナーゼ抑制効果が少ないことが挙げられる。膵島純化でのMK溶液の使用は、（2）のコラゲナーゼ抑制効果が少ないことは利点とならず、また純化時間が数十分であることより組織が純化溶液に接している時間が少なく、保存液としての影響が少ないものと思われる。このことが純化効率に差が認められなかった原因であると考えられる。

03-3. ブタ膵島と外分泌組織の接着特性の検討とプロテオーム分析

琉球大学大学院医学研究科 再生医学講座¹、岡山西大寺病院²、新潟大学 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 口腔健康科学³、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学⁴

中島義基¹，潮平知佳¹，小林直哉²，齊藤一誠³，渡部昌実⁴，野口洋文¹

【目的】液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS/MS) はプロテオーム分析法である。当研究室で分離したブタ膵島や外分泌組織を用いてタンパク質の網羅的発現解析を行った。また、足場材料に着目し、接着特性を検討した。

【方法】ブタ膵臓を摘出後、主膵管より逆向性にコラゲナーゼ溶液を注入し膵臓を膨化させ、Ricordi Chamber にてコラゲナーゼを活性化させ、膵臓の消化を行った。膵組織の洗浄後、連続比重濃度勾配にて膵島純化を行った。純化後の膵島 (純度 95%以上)、および外分泌組織 (純度 99%以上) を用いて、接着特性を検討した。足場材料としてフィブロネクチン、コラーゲンタイプ I、IV、ラミニン I、フィブリノーゲン、BSA を用いた。また、膵島、および外分泌組織は EzRIPA Lysis kit (ATTO) を用いて溶解しプロテオーム分析へ用いた。

【結果】LC-MS/MS 分析より、13 のタンパク質が膵島のみで検出された (Group I)。また、43 のタンパク質が膵島、および外分泌組織の両方で検出された (Group I&E)。さらに、102 タンパク質が外分泌組織のみで検出された (Group E)。膵島の分化や細胞増殖に関与するタンパク質が Group I で検出された (例、CLUS、CMGA、MIF)。膵炎に関与する炎症関連タンパク質が Group E で検出された (例、CBPA1、CGL、CYTB、ISK1、および PA21B)。接着特性の検討では、フィブロネクチンに膵島、および膵外分泌組織への強い接着が認められた。

【結論】これらの結果は、LC-MS/MS によるタンパク質の網羅的発現解析が、細胞成分、生物学的プロセス、および分子機能を構築する新たな因子の同定に有用であることを示す。また、フィブロネクチンが膵島、および膵外分泌組織へ強い接着特性を持つ足場材料であることが示された。

O3-4. Ethylene Vinyl Alcohol-packaging to Xenogeneic Islet Transplantation

台北医学大学口腔工学科¹

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 臓器・器官形成応用分野²

楊凱強^{1,2}, 角昭一郎²

【目的】 Envelopment of fibrous tissue and the infiltration of immune cells impair encapsulated islet function and eventually cause implant failure. The ethylene vinyl alcohol (EVOH) membrane, which is used in hemodialysis, is known to cause minor tissue responses. Accordingly, we proposed that using an EVOH membrane for islet encapsulation may extend graft function *in vivo*.

【方法】 Rat islets suspended in chitosan gel were encapsulated in bags made from highly porous EVOH membranes, and their *in vitro* insulin secretion function as well as *in vivo* performance was evaluated.

【結果】 EVOH bag did not affect islet survival or glucose - stimulated insulin secretion, and islets within the EVOH bag produced insulin continuously for 30 days. Chemical - induced diabetic mice were given islets–chitosan gel–EVOH implants intraperitoneally and exhibited lower blood glucose levels and regained body weight during a 4 - week observation period. The transplanted mice had higher levels of serum insulin and C - peptide, with an improved blood glucose disappearance rate. Histologic inspections of retrieved implants showed a limited number of mononuclear cells and fibroblasts surrounding the implants. The encapsulated islets were intact and positive for insulin–glucagon immunostaining.

【結論】 EVOH bag can protect encapsulated islets, limit fibrous capsule formation, and extend graft function.

04-1. 異種膵島移植臨床展開に向けた免疫寛容空間構築デバイスの開発

京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科¹

京都大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌・栄養内科²

理化学研究所 健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム³

金沢医科大学 小児外科⁴

穴澤貴行¹, 藤倉純二², 岩田博夫³, 多田誠一郎¹, 山根佳¹, 井ノ口健太¹, 岡島英明⁴, 上本伸二¹

【背景】ブタ膵島による異種膵島移植の実現により、ドナー不足を解決し、糖尿病細胞治療の広い展開に寄与することが期待されているが、拒絶反応を制御しうる効果的な移植部位の開発が課題である。我々は、塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)含有アガロースロッドの皮下先行留置により皮下に血流豊富な免疫寛容空間が構築されるとの知見を応用することで、非免疫抑制下での異種膵島移植の実現を目指しており、その現状と課題を報告する。

【方法】bFGF含有アガロースロッドの皮下先行留置による移植部位作成法の再現性を複数の膵島皮下移植モデルで検討し臨床応用への問題点を抽出する。

【結果】免疫応答の異なる2系統のマウス(Balb/c:Th2 dominant, C57BL/6:Th1 dominant)の皮下にbFGFを担持させたアガロースロッドを留置し、血管床を誘導して同種同系膵島を移植したところ、Balb/cではデバイス留置期間に関わらず全例で早期に生着が得られたが、C57BL/6での生着にはデバイス留置期間の延長が必要であった。C57BL/6では留置早期の時期に留置部位の高度の炎症細胞浸潤がみられた。また、マウス同種異型移植モデルで、レシピエントがLow responderである場合は非免疫抑制下でもグラフトの長期生着が得られたが、High responderである場合には長期生着は困難であった。

【結語】皮下の免疫寛容移植部位の作成には、デバイス側の要因のみならずレシピエントにおける局所の炎症・免疫応答の違いが影響しうるということが明らかになった。本法を臨床応用するにあたっては、個人ごとに異なる免疫応答に対応する移植部位作成法を確立する必要がある。現在、移植部位への制御性T細胞誘導あるいは追加投与による課題解決を目指している。

04-2. ウシ血管を用いた脱細胞化小口径動脈グラフトの作製

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 物質医工学分野¹、脱細胞化再生医療材料学研究部門²

物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点³

橋本良秀^{1,2}，山下暁立²，張 永巍^{1,2}，船本誠一^{1,2,3}，岸田晶夫¹

【目的】心臓血管外科領域における置換用血管として種々の人工素材が使用されている。現在、大・中口径人工血管の開存性や耐久性に関しては概ね満足できる状況にあるが、小口径血管（内径 6mm 未満）においては未だ自己血管より優れたものは開発されていない。透析用グラフトや末梢血管領域では合成高分子製の人工血管が用いられているが、早期血栓形成や血管狭窄の問題から自己血管がグラフトとして選択されており、自己血管の採取に伴う侵襲や代替血管不足などの問題が残されている。一方、脱細胞化血管は、生体に由来する組織構造や物性が保持されており、移植後に自己細胞がグラフトに浸潤することによる自己組織化が期待できることから高機能な医療用デバイスとして欧米を中心に活発な研究が行われている。本研究では、ウシ由来の脱細胞化小口径血管を作製し、医用ミニブタを用いて小口径動脈グラフトとしての有用性について検討した。

【方法】ウシ前及び後脚より血管を採取し、外膜側結合組織をトリミングした。高静水圧(High hydrostatic pressure: HHP)法により脱細胞化血管を作製した。脱細胞化の評価として、ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色を行なった。クラウン系ミニブタ(n=4,体重約 15kg)の頸動脈一側に、作製した脱細胞化血管(内径 3~4mm, 長さ 5cm 以上)を移植した。移植前後において超音波エコーを用いて自己及び移植血管の血流を測定した。移植 1 カ月後に血管を摘出し、開存性及び細胞浸潤について組織学的に評価した。

【結果】脱細胞化血管を組織学的に評価した結果、細胞除去が達成され、コラーゲンやエラスチンの配向に変化は見られず、血管壁構造も良好に維持されていた。超音波エコー検査より 4 頭全例で移植した脱細胞化小口径動脈グラフトが開存していることが明らかとなった。内 1 頭では血流が減少しており、剖検時において血栓形成が確認されたが、他 3 頭においては、移植グラフトの血流は移植前と同程度であった。以上より、脱細胞化ウシ血管の小口径動脈グラフトとしての応用可能性が示唆された。

04-3. 脱細胞化骨格を用いた肝臓再生の試み

京都大学医学研究科 外科

小島秀信, 石井隆道, 福光 劍, 小木曾 聡, 友藤克博, 伊藤 孝, 大島 侑,
川本浩史, 南 貴人, 宮内雄也, 上本伸二

【目的】近年になり臓器の細胞成分を薬剤によって除去し、細胞外マトリックスのみを得る脱細胞化技術が確立された。脱細胞化組織には臓器本来の3次元微細構造や血管ネットワークが保持されており、体内に移植可能な臓器再生の鋳型として期待されるが、脱細胞化組織内の不適切な細胞分布や移植後の血栓形成、使用する細胞種を選択など、臨床応用に向けて解決すべき課題も多い。今回我々は、生体に移植して機能し得る肝臓再生を目指し、脱細胞化肝臓に細胞を生着させる再細胞化の方法や血液適合性、用いるべき細胞種について検討した。

【方法】ラットの全肝を脱細胞化し、分離した肝細胞を経胆管的に、血管内皮細胞を経門脈的に再細胞化し、細胞の分布と機能を評価した。さらに体外血液循環を行い、血管内皮細胞の血栓抑制効果について検証した。また、マウスの胎仔肝細胞を細胞源として再細胞化肝臓を作製し、組織像を評価した。

【結果】経胆管経路で注入された肝細胞は血管腔を妨げることなく実質腔に分布し、従来の経門脈経路で注入された肝細胞と比較してより効率的に実質腔に分布した。さらに肝細胞極性が再現されていた。血管内皮細胞は門脈腔に沿って生着し、肝細胞機能を維持するとともに門脈域における血小板沈着を抑制した。また、胎仔肝細胞を細胞源として作製した再細胞化肝臓においては、成熟肝細胞を細胞源としたものと比較してアルブミン合性能が有意に高く、一部にCK19陽性の胆管様構造を観察することができた。

【結論】肝実質細胞を経胆管経路で、血管内皮細胞を経門脈的経路で再細胞化することで適切な細胞分布を再現できた。血管内皮細胞は肝実質細胞の機能維持と血栓抑制に寄与するが、移植に向けては類洞腔を含めたより高い血液適合性の実現が必要と考えられた。未熟な細胞源を用いることで、より優れた肝機能と組織構築を実現できる可能性が示唆された。

O4-4. iBTA 再生医療における異種移植の可能性

バイオチューブ株式会社

中山泰秀

【目的】体内に人工物を埋め込むと、生体防衛反応の一種として埋植物の周囲がコラーゲン結合組織で皮膜化されるカプセル化反応が起こることは良く知られている。我々はその原理を応用し、中空の鋳型を埋植物とすることで、中空形状に合わせた三次元組織形成ができることを見出し、それをスキヤホールドとして用いる再生医療技術を生体内組織形成術（iBTA）と名付けて臨床応用に取り組んでいる。これまで、自家や同種移植において、iBTA 組織が自己化、再生能、成長能を有することを報告してきた。本研究では iBTA 組織の医療機器としての汎用化をめざして取り組んでいる異種移植の可能性について紹介する。

【方法】ホルスタイン牛の皮下に鋳型を2ヶ月間埋め込むことで、管状（バイオチューブ）や膜状（バイオシート）のコラーゲン組織体を作製し、アルコール中で保存した。イヌの肺動脈、腹壁、横隔膜に作製した欠損口にバイオシートをパッチし、ヤギの頸動脈にバイオチューブをインターポーズした。所定期間後に摘出し、組織学的ならびに力学的評価を行った。

【結果】パッチ移植では、異種コラーゲンの分解に伴う炎症は3ヶ月後にはほぼ収束して自己コラーゲン組織への置き換わりが完成し、併行して対象組織への再生進行が観察された。自己や同種移植に比べて分解が早い印象であったが、破綻は一切無かった。横隔膜について、柔軟性を維持した増厚による力学的な適合化を認めた。また、動脈圧にも耐えて自己血管組織構築が起こった。

【結論】

アルコール処理しただけのウシ iBTA 組織は、イヌに対して一過性に軽微な炎症を伴うものの、修復過程をたどり、最終的には組織再生を導いた。shelf ready 再生型修復材としてウシ iBTA 組織の獣医療への応用が期待される。一方、ヒト医療へのハードルは高く、脱細胞などの追加処理が必要になると考える。

謝辞 本研究は北海道大学農学部西邑教授、大分大学医学部宮本教授、大阪府立大学獣医学部秋吉教授との共同研究の成果をまとめた。

05-1. ブタ B4GALNT2 遺伝子ノックアウトの検討

大阪大学大学院医学系研究科 小児成育外科・臓器移植学¹

明治大学 農学部 生命科学科 発生工学研究室²

明治大学バイオリソース研究国際インスティテュート³

坂井理恵子¹, 前田 晃¹, 羅 颯淇¹, 江口 寛¹, 高倉千裕¹, 米山知寿¹,
野口侑記¹, 児玉 匡¹, 松浦 玲¹, 渡邊將人^{2,3}, 長嶋比呂志^{2,3}, 奥山宏臣¹,
宮川周士^{1,3}

【目的】

近年、 α Gal、H-D 抗原に続き、Sd^a 抗原が新たな異種抗原として発見された。Sd^a 抗原の合成に關与する β -1,4-N-acetyl-galactosaminyltransferase 2 (B4GALNT2) 遺伝子を KO したブタの細胞は、ヒト血清抗体の結合量が減少することが報告されている [J Estrada et al.;2015]。一方、Sd^a 抗原はヒトにおいても組織、血液型抗原として存在している。ヒトとブタで B4GALNT2 遺伝子の相同性は高く、糖に種差はないため、Sd^a 抗原の糖鎖構造は同じと考えられる。しかし上記の報告では、ヒト Sd^a 抗原に対する抗体を持つ人は僅かであるのに対し、ブタ Sd^a 抗原に対する抗体は多くの人に存在するとされている。さらに、ヒトとブタの細胞で抗 Sd^a 抗体、レクチンによる反応性に違いが見受けられる。このようにブタ Sd^a 抗原には不透明な部分がいくつか存在する。そこで今回、我々もブタ B4GALNT2 の KO を行い、まずは抗原性減少が再現できるか検討した。

【方法・結果】

CRISPR を用いて、ブタ血管内皮細胞の B4GALNT2 遺伝子を KO した。KO 細胞を糖鎖認識部位が異なるレクチン(DBA、SBA、WFA)で染色したところ、いずれも抗原性減少を確認した。次に、WT と KO 細胞間でヒト血清抗体の結合量を比較したところ、差のある個体(血清)を認めた。この血清と同個体のマクロファージを用いて貪食試験を行ったが、現在のところ傷害率に差は認められておらず、検討中である。

【結論】

ブタ B4GALNT2-KO は、 β 結合以外にも α 結合した GalNac 抗原の減少を確認できたことから、ブタ B4GALNT2 はヒトとは異なる機能を持つ可能性が示唆された。今回使用したヒト血清では、抗体量減少は特定の個体でしか確認できず、ブタ Sd^a 抗原への感受性は人によって異なると考えられた。

05-2. SLA(swine leukocyte antigen)に対する抗体接着と凝固系亢進の関連性

愛知医科大学 腎疾患・移植免疫学寄附講座¹, 愛知医科大学病院 薬剤部², 農業生物資源研究所³, プライムテック株式会社⁴, 日本大学 生物資源科学部⁵, 愛知医科大学 外科学講座 腎移植外科⁶

三輪祐子¹, 岩崎研太¹, 前仲亮宏², 鈴木俊一³, 岩元正樹⁴, 大西彰^{3,5}, 小林孝彰⁶

【目的】ヒトの移植で問題となる HLA 抗体は、ブタの MHC である swine leukocyte antigen (SLA)に交差し、HLA 抗体が HLA class II に結合すると、抗凝固系因子である thrombomodulin(TM)の発現が抑制され、HLA 抗体結合と凝固系亢進との関連性が報告されている。ブタに導入されたヒト TM(hTM)が、i)SLA class I, II 抗原の発現抑制効果と ii)SLA に対する抗体が接着した場合、発現抑制があるか検討した。

【方法】hTM 導入ブタ,及びwild ブタより採取した大動脈血管内皮細胞(hTM/PAEC, wild-PAEC)を pig IFN γ で 48 時間刺激をして、i)SLA class I, SLA class II(DR)の発現を比較した。また ii)hTM-PAEC を IFN γ で刺激後、抗 SLA class I,抗 SLA class II(DR)を結合させ、hTM の発現抑制が起こるか確認した。

【結果】i) SLA の発現上昇率は、SLA class I (hTM-PAEC, wild-PAEC)=(12.9, 20.3),SLA class II (hTM-PAEC, wild-PAEC)=(48.9, 78.9)と wild-PAEC に比較して、hTM-PAEC で発現抑制効果がみられた。ii)抗 SLA 抗体結合後の hTM の発現 (MFI 値) は、(control,抗 SLA class I, 抗 SLA class II)=(2301,2922,1920)、抗 SLA class I 抗体は、hTM の発現上昇傾向であったが、抗 SLA class II 抗体の接着は発現を抑制した。

【考察】我々は PAEC に導入した膜型の hTM の抗炎症効果を報告してきたが、SLA 抗原の発現抑制効果もみられた。凝固系の亢進は、SLA class II に対する抗体の接着が鍵になり、今後 HLA 抗体が接着した凝固系の反応を詳細に検討する予定である。

05-3. ヒト化マウスを用いた抗 HLA 抗体産生機序の解明へ向けて

広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科¹, 吉田総合病院²

田原裕之¹, 柳川泉一郎², 大段秀樹¹

【目的】

同種異系移植における Donor-specific antibody (DSA) は、慢性抗体関連型拒絶反応の原因の一つであり、グラフト長期生着に大きく影響すると考えられる。しかしながら DSA の発症メカニズムは不明であり、その根本的制御方法は確立されていない。ヒト免疫担当細胞による DSA 産生メカニズムを解析する目的で、異種免疫不全マウス(NSG マウス)を用いた HLA 抗体産生ヒト化マウスを作成し研究してきた。将来的に異種移植が臨床応用された場合、異種グラフトに対する特異的抗体の制御解明にも応用可能なモデルであると考えられる。ヒト化マウスモデルによる HLA 抗体産生の特徴と着目すべきメカニズムについて考察を加える。

【方法】

HLA の異なる 2 種類の末梢血単核球(レシピエント PBMC と放射線照射したドナーPBMC)を、B 細胞活性化促進目的に human-CD40Ligand 発現マウス繊維芽細胞上で *in vitro* 混合培養後、Naïve NSG マウスへ投与し、さらに同一ドナーPBMC を投与し免疫(Challenge)を行った。このヒト化マウスの末梢血中の抗 HLA 抗体価は WAKFlowTM を用いた Luminex 法で計測した。

【結果・結論】

作製したヒト化マウスの血清中で、全例 human total-IgG 値の上昇を認めた。抗 HLA 抗体は全例で産生を認めたが、非 DSA が主体であり、DSA を有意に産生するマウスモデルは認めなかった。むしろ、複数種の HLA 抗体(非 DSA)が産生するのに対して DSA 産生のみが抑制傾向を示していた。DSA 産生促進を担う特異的なシグナルの欠如が *in vitro* 培養系に存在すると考え、抗体産生 B 細胞活性化シグナルである BAFF-BAFF 受容体シグナルを誘発させた培養系、レシピエント PBMC から制御性 T 細胞を除去した培養系で同様に HLA 抗体産生を促した。結果としてこれらの実験系においても有意な DSA 産生モデルは確立されなかったが、異種動物を用いたヒト免疫細胞による汎用性の高い抗体産生モデルとして改良の意義があると考えられた。

05-4. 異種間キメラ動物における自己寛容破綻のメカニズムの解明

東京大学医科学研究所¹、自然科学研究機構生理学研究所²、
スタンフォード大³

濱仲早苗¹、後藤哲平²、平林真澄²、山口智之¹、中内啓光^{1,3}

【目的】我々は、胚盤胞補完法を用いて膵臓欠損(*Pdx-1 KO*) マウスあるいはラット体内に、それぞれ異種であるラットまたはマウス多能性幹細胞由来の膵臓を作出することに成功している。異種の臓器を持つキメラ動物において、異種細胞は、胸腺の発生以前からホスト動物の発生に寄与するので、免疫寛容が成立するものと想定していた。しかし、この *Pdx-1 KO* ラットにマウス多能性幹細胞を注入して作成した異種間キメラでは、免疫が関係すると思われる異常が観察され、免疫学の定説に反して自己寛容が成立していないのではないかという疑問が出てきた。そこで、本研究においては、異種間キメラ動物でみられる自己免疫様病態のメカニズムについて皮膚の異常を指標として検討を行った。

【方法】通常免疫あるいは免疫不全 (*Interleukin-2 receptor gamma chain, IL2RG KO*) の Wistar ラットの胚盤胞と C57BL/6・GFP マウス ES 細胞を用いて異種間キメラを作成し、自己免疫様の病態に T 細胞、B 細胞、NK 細胞がどの様に関与しているかを皮膚の異常を指標として血液細胞のキメリズム解析、ならびに組織の病理学的解析を行った。

【結果】通常免疫同士あるいはマウス ES 細胞、ラットの胚盤胞のどちらかが免疫不全で一方が通常免疫という組み合わせの異種間キメラにおいては、生後 1 週目から GFP 陽性のマウスの皮膚に異常が起こり、病理解析の結果 CD3 陽性細胞の浸潤が認められた。さらに通常免疫同士の異種間キメラでは、成体になるまでにマウスの皮膚は完全に消失した。一方、マウス ES 細胞とラット胚盤胞の両者が免疫不全の異種間キメラでは、皮膚の異常は起こらずに、成体においても GFP 陽性のマウスの皮膚は出生時と同様に維持されていた。

【結論】異種間キメラでは T 細胞、B 細胞、NK 細胞のいずれかに関係した免疫系の反応が起きているために自己寛容が成立していないことが示唆される。

05-5. ブタ後腎バイオリアクターによる腎再生医療：マーモセット 異種移植モデルの検討

東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科¹

北里大学獣医学部獣医学科小動物第2外科学研究室²

明治大学バイオリソース研究国際インスティテュート(MUIBR)³

慶應義塾大学医学部ブリヂストン臓器再生医学寄付講座⁴

松本啓¹, 藤本俊成¹, 岩井聡美², 松成ひとみ³, 斎藤弥積¹, 高村毅¹,
高瀬健太郎¹, 田尻進¹, 山中修一郎¹, 横手伸也¹, 福井亮¹, 小林英司^{3,4},
長嶋比呂志³, 横尾隆^{1,3}

【背景】 iPS 細胞から腎前駆細胞まで分化誘導する方法は今や国内外複数のグループが成功しており、我々も複数の手法で成功している。また、発生段階の後腎を膀胱付き総排泄腔（クロアカ）ごと移植する事により、腎後性腎障害を回避し、移植発生腎を長期維持する方法も開発した。最近では腎前駆細胞を異種動物のものに置換するシステムを開発し、このシステムを用いた遺伝子改変ブタも現在開発中である。これらのシステムを統合すれば理論上は iPS 細胞からブタ後腎をバイオリアクターとし、ヒト細胞由来キメラ腎臓を作成する事が可能となる。そこで近い将来のヒト臨床応用を視野に入れ、霊長類であるコモン・マーモセット内でのブタ腎発生継続実験を開始した。

【方法および結果】（実験1）E30 ガラス化凍結ブタ後腎をコモンマーモセット2匹の傍大動脈部、大網部、腎被膜下、へ移植した。免疫抑制薬として tacrolimus (TAC) 2mg/kg/day p.o.、micomofetil fenolate (MMF) 20mg/kg/day p.o.、methylpredonisolone (mPSL) 10mg/kg/day p.o. (tapering) の免疫抑制下で1週間発達継続させ、移植後腎を摘出した。組織学的解析と炎症細胞浸潤の程度、将来想定される手術手技などから考慮し、傍大動脈領域への移植が望ましいと判断した。

（実験2）実験1の結果を踏まえて、3匹のコモンマーモセットへE28 ガラス化凍結後ブタクロアカを傍大動脈領域に移植した。免疫抑制薬はそれぞれ TAC 0.3mg/kg/day s.c. + mPSL 5mg/kg p.o. のみのもの、それに MMF 20mg/kg/day p.o. を加えたものと azathioprine (AZA) 2mg/kg/day p.o. を加えたものをそれぞれ免疫抑制下で維持し、4週後に移植クロアカを摘出し、組織学的検討を行った。その結果、MMF や AZA を追加した群では炎症細胞浸潤が少なく、良好な生着を得ることができた。

【考察】 移植臓器の拒絶回避および生着維持には MMF や AZA の追加が望ましいと考えられた。しかし、発達過程にある幼弱な腎臓を移植するため、上記薬剤が発達継続を阻害する可能性も考えてプロトコルの改良を目指していく予定である。

研究会開催記録

- ・ 第1回平成10年6月26-27日 愛知
名古屋大学 第二外科
高木弘
- ・ 第2回平成11年3月7日 広島
広島大学 第二外科
土肥雪彦
- ・ 第3回平成12年6月10日 大阪
大阪大学 未来医療開発専攻
臓器置換分野
白倉良太
- ・ 第4回平成13年2月24日 千葉
千葉大学 先端応用外科学
落合武徳
- ・ 第5回平成14年2月23日 宮城
東北大学 先端外科
里見進
- ・ 第6回平成15年3月29日 岡山
岡山大学 消化器腫瘍外科
田中紀章
- ・ 第7回平成16年2月28日 京都
京都府立医大 移植・再生制御外科
吉村了勇
- ・ 第8回平成17年3月5日 奈良
奈良県立医科大学 胸部・心臓血管外科
谷口繁樹
- ・ 第9回平成18年3月4日 栃木
自治医科大学 分子病態治療研究センター
小林英司
- ・ 第10回平成19年3月10日 東京
明治大学 生命科学科発生工学研究室
長嶋比呂志
- ・ 第11回平成20年2月23日 大阪
国立循環器病センター 臓器移植部
中谷武嗣
- ・ 第12回平成21年3月7日 鹿児島
鹿児島大学 フロンティアサイエンス研究推進センター
高尾尊身
- ・ 第13回平成22年3月14日 東京
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所・機能分子研究部門・分子制御分野
岸田明夫
- ・ 第14回平成23年12月10日 広島
広島大学 先進医療開発科学講座
外科学
大段秀樹
- ・ 第15回平成24年12月8日 京都
京都大学 再生医科学研究所
岩田博夫
- ・ 第16回平成25年11月10日 大阪
鹿児島大学 医用ミニブタ・先端医療開発研究センター
山田和彦
- ・ 第17回平成27年3月14日 栃木
自治医科大学 再生医学研究部
花園豊
- ・ 第18回平成28年2月20日 長崎
長崎大学 腫瘍外科
永安武
- ・ 第19回平成29年2月25日 京都
京都大学 肝胆膵・移植外科
上本伸二
- ・ 第20回平成30年3月10日 大阪
大阪大学 小児成育外科
宮川周士
- ・ 第21回平成31年2月16日 沖縄
琉球大学 再生医学講座
野口洋文

第 21 回日本異種移植研究会開催にあたり、次の各企業のご協賛を頂戴いたしました。

ここに銘記し、そのご厚意に深謝いたします。

(平成 31 年 2 月 16 日・五十音順)

協賛企業一覧

アステラス製薬株式会社
アンリッシュ食品工業株式会社
株式会社ウミヒラ
株式会社 LSR
株式会社エル・エム・エス
株式会社クラレ
株式会社 Grancell
正晃株式会社

まだないくすりを
創るしごと。

世界には、まだ治せない病気があります。

世界には、まだ治せない病気とたたかう人たちがいます。

明日を変える一錠を創る。

アステラスの、しごとです。

明日は変えられる。

 **astellas**

アステラス製薬株式会社

www.astellas.com/jp/

次世代の食品凍結技術「プロトン凍結」
おいしい明日へと繋ぐ、食の冷凍化！

プロトン・ホールディングス・グループ
アンリッシュ食品工業株式会社

巷で話題の
急速凍結機



凍結状態



蒸気で解かず、
凍結機



原材料／仕掛け原料／最終加工品まで！



 **enrich**
food manufacturers, inc.

沖縄県うるま市勝連南風原 5192 番 32
TEL : 098-939-9056 FAX : 098-939-9066

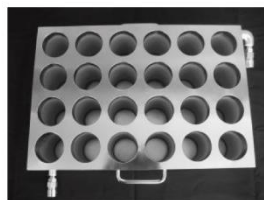
藤島移植実験器具



医療の実現・安全を確かなカタチに

第二種医療機器製造販売業許可 26B2X10004
医療機器製造業許可(一般) 26BZ006002

クーリングブロック



灌流トレイ



温度計とセンサー



チャンバー



二層法



グラディエントメーカー



ヒートコイル



メッシュ各種



灌流メッシュ・キャンディーケイン・チタンボール・トレイ斜行台・遠沈管スタンド・臍管カニューレその他



umihira 株式会社 ウミヒラ

京都市南区久世殿城町126 075-932-4359 <http://www.umihira.co.jp/>



正晃

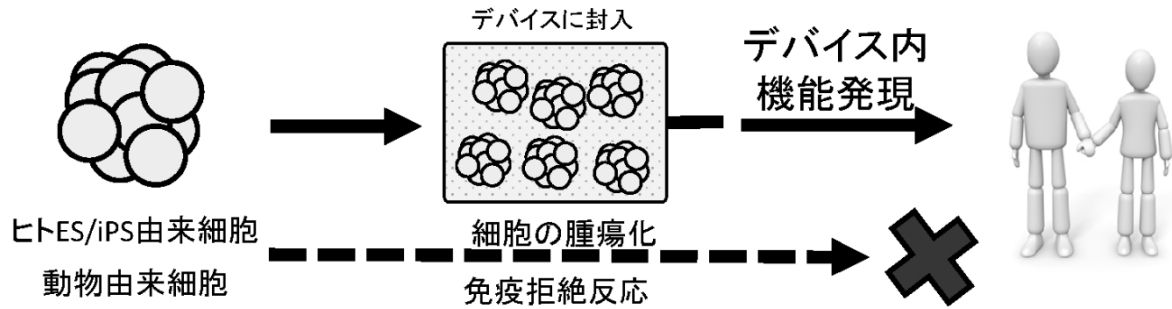
SEIKO CO.,LTD.

医療・科学の専門商社として
社は誠正精(誠意・正義・精力)のもと
豊かな社会の発展に貢献します。

正晃株式会社 〒813-0062 福岡市東区松島3丁目34番33号 TEL:092-621-8199 FAX:092-611-4415 www.seikonet.co.jp
正晃グループ 正晃ホールディングス(株) 関東エリア(株)バイオテック ラボ 関西エリア(株)竹内化学(株) 北海道エリア(株)フロンティア サイエンス 理化学機器輸入販売(株)スクラム 医療ソフトウェア開発 正晃テック(株) 中国 東南アジア 上海正晃商貿有限公司

免疫・細胞隔離デバイス

使用イメージ



免疫・細胞隔離デバイス(開発品)

- 表面: 10-10³ nmオーダーの微細孔
- 分画性: 表面孔径コントロールにより、分画性コントロール可能
- サイズ: マウス用外寸12 mm x 20 mm, 他サイズ対応可能
- 生体適合性: 組織反応性は軽微

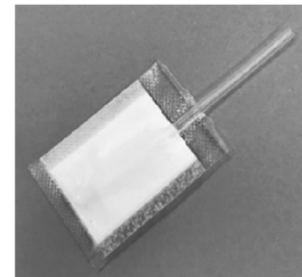


Figure 1 開発品イメージ

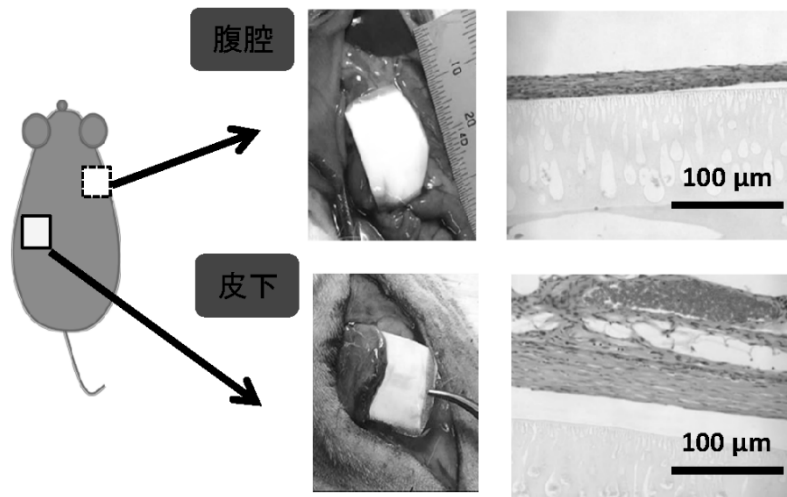


Figure 4 ラット移植三ヶ月後のデバイス周辺組織(左)、HE染色画像(右)

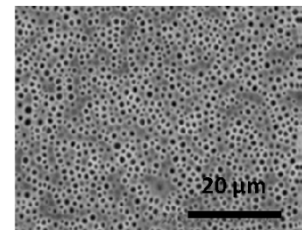


Figure 2 デバイス表面のSEM画像 (x 2,000)

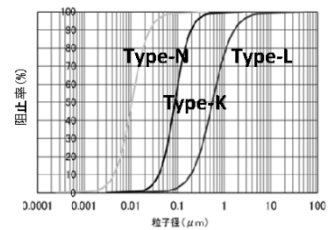


Figure 3 デバイス表面の分画性

<お問い合わせ>

株式会社クラレ

研究開発本部 成形部材事業推進部 マイクロデバイス開発チーム(担当:川越)

E-mail: masako.kawagoe@kuraray.com

(2018年3月作成)