

福岡大学

基盤研究機関胰岛研究所

平成 27 年度－平成 29 年度 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
“生体内胰岛  $\beta$  細胞再生”  
研究成果報告書



平成 30 年 4 月

研究代表者 安波 洋一



	研究者名	所属・職名
研究代表者	安波 洋一	福岡大学基盤研究機関膝島研究所・所長 福岡大学医学部総合医学研究センター・教授
研究分担者 (学内)	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学・教授
	高木 誠司	福岡大学医学部形成外科学・准教授
	野見山 崇	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学・准教授
	岩本 隆宏	福岡大学医学部薬理学・教授
	喜多 紗斗美	福岡大学医学部薬理学・准教授 徳島文理大学薬学部薬理学・教授(平成29年度より)
研究分担者 (学外)	谷口 克	理化学研究所・グループディレクター
	山本 靖彦	金沢大学・教授
ポスト・ドクター	川波 賢子	福岡大学基盤研究機関膝島研究所
研究支援者	新田 直柔	福岡大学基盤研究機関膝島研究所
	奥山 希	福岡大学基盤研究機関膝島研究所
	濱口 百合子	福岡大学基盤研究機関膝島研究所
	大津 由莉	福岡大学基盤研究機関膝島研究所
アルバイト (動物管理)	川口 智美	福岡大学基盤研究機関膝島研究所
大学院生 (博士課程)	中房 祐樹	九州大学臨床腫瘍外科 福岡大学大学院医学研究科 特別研究学生
大学院生 (修士課程)	相原 健吾	九州大学大学院医学系学府保健学専攻 福岡大学大学院医学研究科 特別研究学生
	中岡 裕輔	九州大学大学院医学系学府保健学専攻 福岡大学大学院医学研究科 特別研究学生

## 目次

1. はじめに .....	3
2. 皮下脂肪組織内膵島移植モデルの確立 .....	3
3. 皮下脂肪組織内移植膵島再生の解析 .....	9
4. 皮下脂肪組織と単離膵島を用いた in vitro 実験系の開発 .....	20
5. 周囲脂肪組織の網羅的 mRNA 解析による幹細胞ならびに再生因子同定 .....	20
6. 再生因子の効果検証、機序解析 .....	22
7. 成果 .....	22
8. 課題 .....	23
9. 今後の展望 .....	23
10. 業績 .....	24
11. 記者発表 .....	50
12. 代表論文 .....	54
13. 特許 .....	94

## 1. はじめに

申請者は長年に渡り、(重症)1型糖尿病の根治治療法である膵島(細胞)移植の臨床応用に関する研究に従事してきた。膵島移植は従来のインスリン治療に代わり、移植したインスリン産生細胞(膵島β細胞)から分泌されるインスリンにより糖尿病を根治する治療法で、2000年に欧米で臨床での成功例が報告されて以来、現在わが国でも実施されている。実際の手技は脳死または心停止ドナーから提供された膵臓より膵島を単離し、局所麻酔下にレシピエントの肝臓内(経皮経門脈内)に移植する。移植が成功すると肝臓内に生着した移植膵島がレシピエントの血糖値に応じてインスリンを合成、分泌しレシピエントの血糖を生理的範囲に制御する。このように膵島移植は簡便、安全で効果的な治療法であるが解決すべき課題が多い。中でもその効率が低いことが上げられる。具体的には移植部位である肝臓内で特異的に発現する自然免疫拒絶反応により移植後早期(24時間以内)に移植膵島の約60%が喪失する。したがって1回の移植では生着する移植膵島数が少なく、レシピエントが移植後にインスリン治療が不要になるには2-3回の移植、すなわち2-3人のドナーが必要になる。もう一つの課題は個々の大きさ(径)が約200μmと小さい膵島が移植後に肝臓内に散在し、超音波、CT、MRIで評価できず、拒絶反応の予知が困難、更に肝臓内移植膵島は必要時、例えば拒絶反応時に生検や回収ができない。これらの課題はいずれも移植部位が肝臓であることに起因しており、新たな臨床応用可能な膵島移植部位の開発が切望されている。このような観点より、申請者は上記課題を全て解決する新たな膵島移植部位として鼠径部皮下脂肪組織を見出した。

本研究課題は上記の鼠径部皮下脂肪組織への新規膵島移植法の確立とこの方法によって見出された移植膵島の再生、並びに驚くべき知見として、移植部位である皮下脂肪組織に於けるレシピエント由来インスリン産生細胞の解明に関する研究である。

## 2. 皮下脂肪組織内膵島移植モデルの確立

### (1) 鼠径部皮下白色脂肪組織(Inguinal Subcutaneous White Adipose Tissue: ISWAT)への膵島移植法

ドナー、レシピエントにC57BL/6マウスを使用した。レシピエントは移植3日前にストレプトゾシン(180mg/kg, iv)で糖尿病を作成した。単離したドナー膵島を実体顕微鏡下に用手的にハンドピックし2匹分のドナーから単離した400個膵島を、1回の移植に用いた。ドナー膵島は1.5mlのマイクロチューブに入れ静置し、片方にハミルトンシリンジを装着した約20cmのPE50ポリエチレンチューブ内に充填した。PE50チューブを半分に折り曲げ、15mlコニカルチューブに入れ、190Gで1分遠心した。この操作により膵島はチューブ中心部でペレを形成した。ペレの長さを測定したのちにPE50チューブのペレより1mmの部位でチューブを切離し、反対側にハミルトンシリンジを装着した。

移植はレシピエントの左鼠径部に縦に皮膚を切開、ISWAT 前面を露出(図1a)、下腹壁動静脈の走行を確認、その内側に近接して ISWAT 内に作成した3-4mmのポケット(図1b)に PE50 に装てんしたドナー膵島を留置(移植)した(図1c)。ポケット開口部はステイプラーで閉鎖(図1d)し、皮膚を縫合し、移植を完了した。

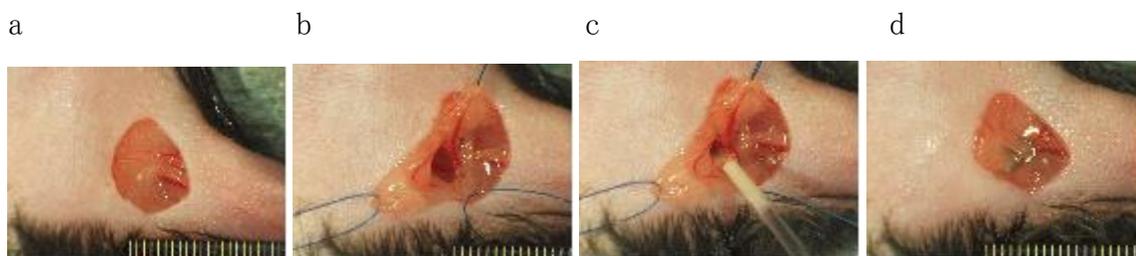


図1. 鼠径部皮下脂肪組織内膵島移植法

## (2) 移植膵島機能評価

### ・移植後血糖値の推移

2匹のドナーから単離した400個膵島を移植した場合、移植時には $>400\text{mg/dl}$ であった STZ 糖尿病レシピエントの血糖は移植後徐々に下降し、60日までには全て $300\text{mg/dl}$ 以下になった。移植後40-120日の間にグラフトを含む ISWAT を切除するとレシピエントは直ちに高血糖( $>400\text{mg/dl}$ )になった(\*)。この所見は正常化したレシピエント血糖が移植膵島によって維持されていることを示している。対照に膵島移植をしなかった STZ 糖尿病マウスは高血糖で推移し、90日までに全て死亡した。

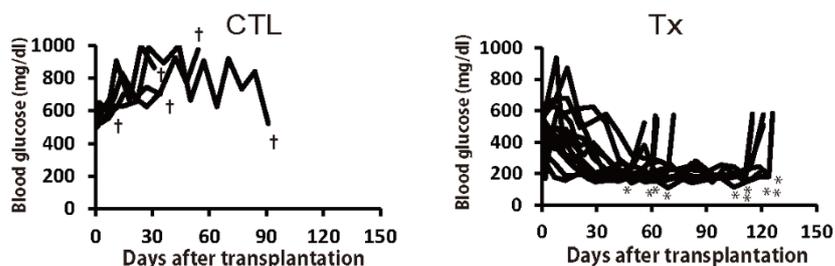


図2. 移植後血糖値の推移

### ・腹腔内糖負荷試験 (IPGTT)

膵島移植後120日に IPGTT( $1\text{g/kg}$ , ip)を行うとレシピエント耐糖能は優位に改善しているのが判明した。同じレシピエントに対し、移植膵島を含む ISWAT を切除後7日に再度 IPGTT を行ったが、耐糖能改善効果は消失していた。

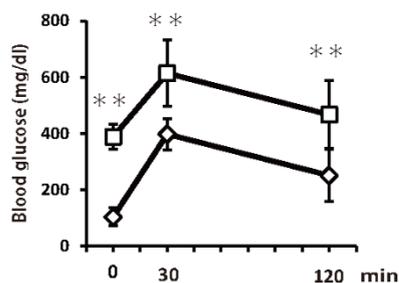


図3. 移植後120日目の腹腔内糖負荷試験  
グラフト切除前(◇)、後(□)。\*\* ;P<0.01,  
ANOVA).

#### ・移植膵島形態

肉眼所見：移植後経時的にレシピエントの ISWAT 前面を露出し、移植膵島を  
実体顕微鏡下に観察した。興味深いことに移植膵島は ISWAT 内で 下腹壁動静  
脈と交通する新生血管を伴った系1—2mmの細胞塊(クラスター)を形成し、生着  
していた。



図4. 移植膵島肉眼所見

矢印：皮下脂肪組織内で集塊を形成し  
た移植膵島。

組織学的所見：移植膵島を含む ISWAT をホルマリン固定後にパラフィンブロック  
を作成し、薄切切片の HE と免疫染色を行った。肉眼で見られたように移植膵島は  
1—2mmの細胞塊で正常形態の膵β細胞α細胞を含有していた。

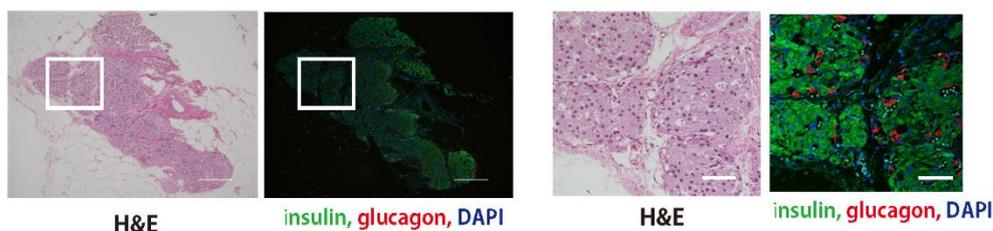


図5.  
移植  
膵島  
組織  
所見

#### ・移植膵島の CT 像

移植膵島が1—2mmの新生血管を伴う細胞塊として生着している所見より、造影  
CTにより移植膵島が可視化できるのではないかと想定し、マイクロCTを行った。膵島  
移植後120日目のレシピエントを実験に使用した。麻酔下に頸静脈よりマウス用血管  
造影剤(0.1ml)を静注し、直ちにマウス用 CT で撮像した。その際に位置と大きさの指  
標として径 0.5mm のペンシル芯(長さ5mm)を移植膵島塊に近接して ISWAT 表面に  
留置した。その結果、ペンシル芯に近接して、移植膵島が左鼠径部 ISWAT 内に存在  
する造影された集塊として同定できた。

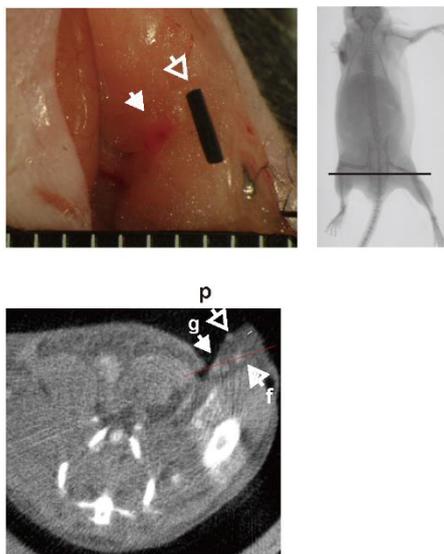


図6. 移植膵島の CT 画像  
g; 移植膵島、p; ペンシル芯、f; 大腿動脈

・肝内移植と比較した ISWAT への移植効率

ISWAT への移植効率が肝内移植に比し、優れているかどうか検討した。具体的には STZ 糖尿病マウスへの膵島移植(同種同系)に際し、ドナー膵島数を400(2匹分)より、200(1匹分)、さらには100(1/2 匹分)と少なくして 肝臓内(pv) vs SWAT(sc) への移植後レシピエントの血糖値推移を観察した。その結果、肝臓内移植では200と100では移植後血糖値は正常化せずレシピエントは高血糖で推移した。一方、ISWAT では200で血糖は正常化、さらには100でも徐々に血糖は下降し、移植後150日には50%のレシピエント血糖が 300mg/dl 以下になった。

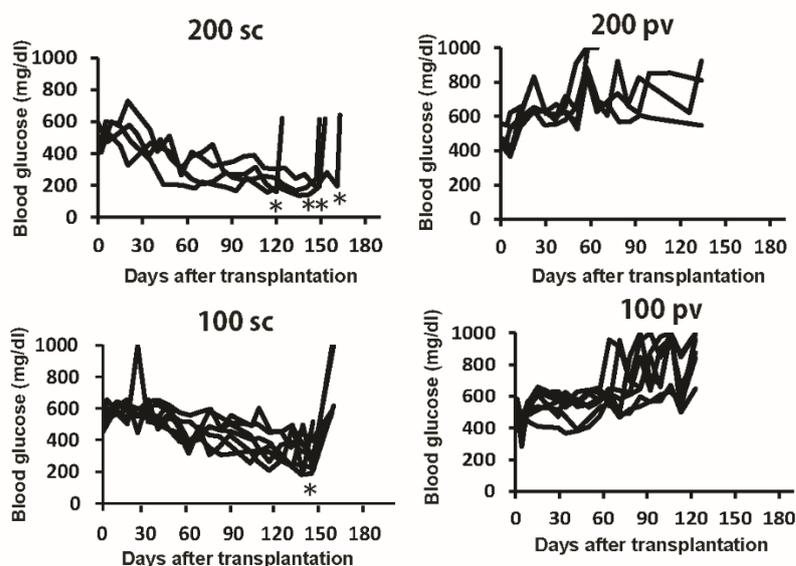


図7. 皮下脂肪組織内移植効率は肝内移植より優れている。

### (3) 同種移植拒絶反応制御

膵島移植では移植部位によっては拒絶反応の制御が困難な場合があり、新規移植部位である ISWAT での検証が必要である。その観点より、他の膵島移植部位で拒絶反応制御効果が明らかになっている副刺激阻害剤 (CTLA4Ig plus anti-CD40L) を用いて ISWAT に移植した同種異型膵島の拒絶反応が制御できるか検討した。

ドナーとして BALB/c 膵島を、レシピエントに STZ 糖尿病 C57BL/6 マウスを用いた。1回の移植に 400 個の膵島をレシピエントの ISWAT に移植した。CTLA4Ig (500 $\mu$ g/injection) と anti-CD40L(200 $\mu$ g/injection) を移植後 0, 2, 4, 6, 8 日の5回腹腔内投与した。

その結果、6/8匹のレシピエントが移植後150日以上に渡り正常血糖を示した。これらのレシピエントに対し、移植膵島を含む ISWAT を切除するとレシピエントは直ちに高血糖となった。また切除した ISWAT 内に正常膵 $\beta$ 細胞が主体となった移植細胞塊を認めた。コントロール抗体を投与した対照群では移植膵島は全て拒絶され、レシピエントは移植後14日以内に高血糖となった。組織学的には単核球の浸潤があり、膵島細胞は観察できなかった。

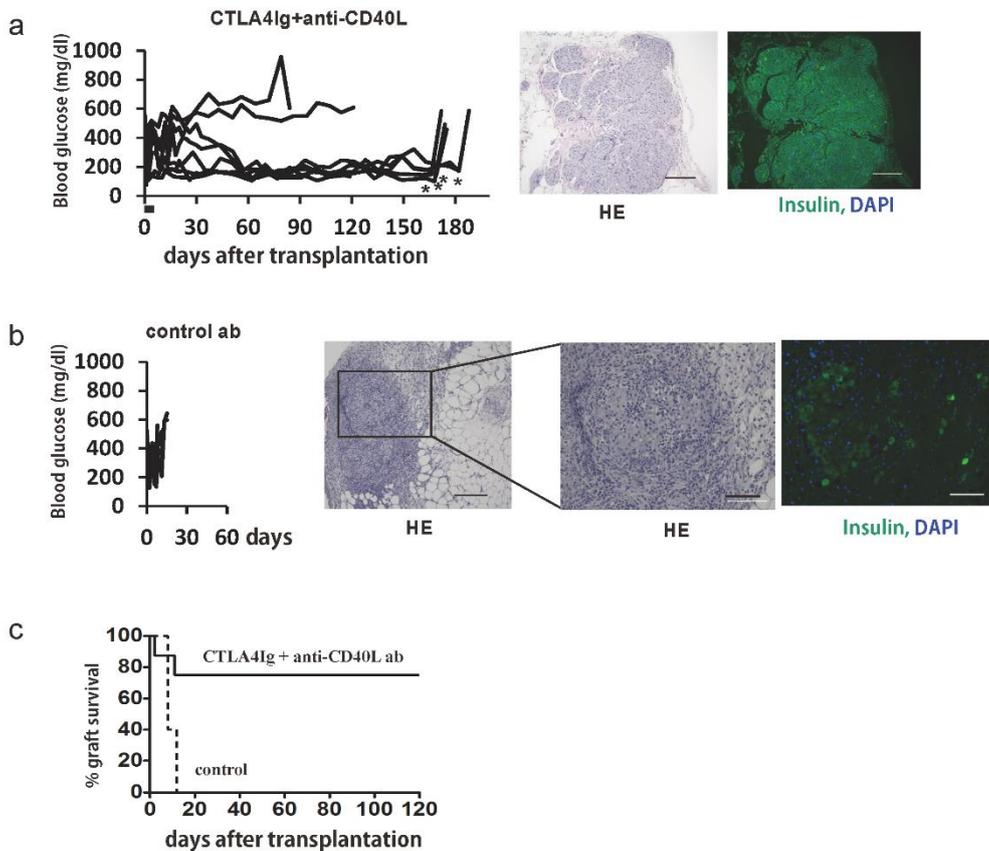


図8. 副刺激阻害剤により拒絶反応制御

#### (4) ヒト膵島をドナーとして STZ 糖尿病免疫不全マウスの ISWAT への移植

ヒト膵島が今回見出された新しい膵島移植法後に機能するかを検証するために、STZ 糖尿病免疫不全マウス(NOD/scid)の ISWAT に移植し、レシピエントの血糖値推移を観察した。米国では臨床使用されない脳死ドナー膵臓の研究転用が認められており、倫理委員会の承認下に米国より搬送されたヒト膵島を実験に用いた。

その結果、2000-2300IEQ(islet equivalent)のヒト膵島移植後に糖尿病 NOD/scid マウスの血糖は正常化した(a)。IPGTT で移植によりレシピエント耐糖能は有意に改善(b)、さらにはレシピエント血中にヒト C-ペプチドが検出できた(c)。移植後60-150日で移植膵島を含む ISWAT を切除するとレシピエントの血糖は直ちに高血糖になった。組織学的に切除した ISWAT 内に正常形態を示す、インスリン染色陽性の膵島細胞塊があった(d)。

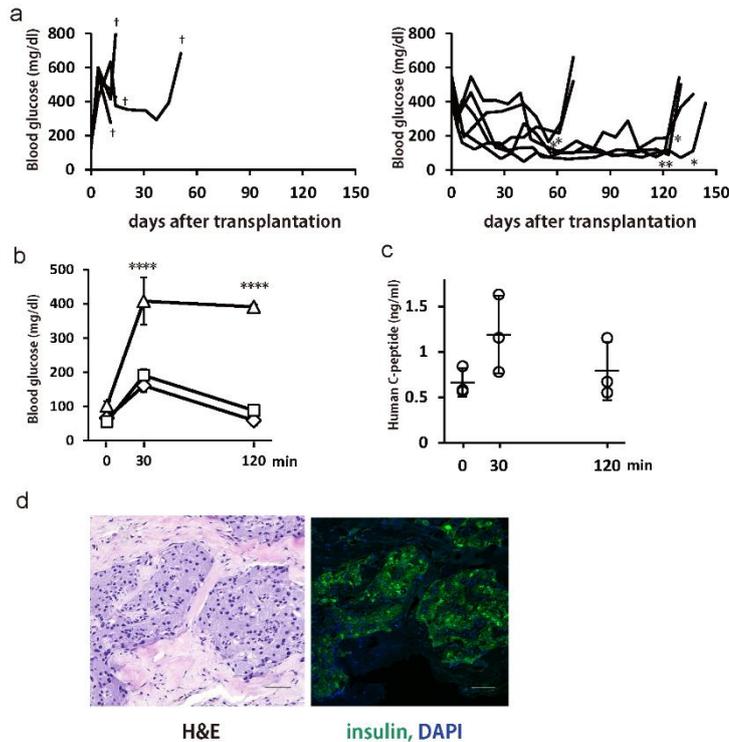


図9. ヒト単離膵島の STZ 糖尿病免疫不全マウスへの移植

#### (まとめ)

以上の知見より今回見出した ISWAT への新しい膵島移植法が現在臨床で行われている肝臓内移植法と比較して優れた膵島移植法であることが証明でき、新規移植法として確立できた。上記知見は下記特許として登録された。

発明の名称： インスリン産生膵島細胞移植用製剤

出願日： 平成27年4月14日

登録日： 平成30年3月9日

特許登録番号： 特許第 6300287 号

代表発明者： 安波洋一

また、原著論文として発表した (Transplantation 2018 Mar 8. doi: 10.1097/TP0000000000002162)。

### 3. 皮下脂肪組織内移植膵島再生の解析

STZ 糖尿病レシピエントの ISWAT への同種同系膵島の移植後にレシピエント血糖が徐々に下降することより、その成因として移植膵島再生もしくは皮下脂肪組織内に新たなインスリン産生細胞創生の可能性が考えられ、両者について検討した。

#### (1) 移植膵島再生

##### ・インスリン含有量

ISWAT への同種同系膵島移植後に移植膵島内膵  $\beta$  細胞量の指標としてインスリン含有量を経時的に測定した。具体的には400個膵島をドナーとして STZ 糖尿病マウスレシピエントの ISWAT へ移植後2、30、60、120日目に移植膵島を含む ISWAT を切除し、アシッドエタノール法でインスリンを抽出し、ELISA でインスリン含有量を測定した。

その結果、移植後2日のインスリン含有量は移植膵島の約10%で、30日も同様であった。しかしながら、60日から増加し、120日では30%にまで増加していた (ANOVA,  $P < 0.05$ )。

##### ・インスリン/グルカゴン陽性細胞

移植後60日、120日の移植膵島を4%PFA で固定後にパラフィンブロックを作成し、薄切後に蛍光免疫染色を行った。インスリンとグルカゴンの二重染色を行ったところ、偶然にも ISWAT 内の移植膵島内(辺縁)にインスリンとグルカゴンの両方に染色される細胞が見出された。生理的にはインスリン/グルカゴン陽性細胞は胎児膵臓内で見られ、 $\beta$  細胞の前駆細胞と考えられている。ただ、今回 adult islets をドナーとする移植膵島で発現したインスリン/グルカゴン陽性細胞が同様に  $\beta$  細胞前駆細胞かどうか、また最近注目されている一つの分化細胞から他の分化細胞への transdifferentiation の結果なのか、今後の解析が必要である。後者に関して、最近特殊な状況下、具体的には  $\beta$  細胞を完全に欠落させたマウスモデル ( $\beta$  細胞デフテリアトキシン受容体 Tg マウスにデフテリアトキシン投与) においてグルカゴン細胞がインスリン細胞に変換するという報告 (Nature 464: 1149, 2010) がある。我々が皮下脂肪組織内移植膵島に見出したインスリン/グルカゴン細胞がグルカゴン細胞由来かどうか、グルカゴンに YFP を標識したマウス (GlucagonCreROSA26YFP) を作成し、その膵島をドナーとして用いて、現在解析を進めている。もしそうだとすると、YFP 陽性細胞は FACS-sorting が可能であり、しかもインスリン/グルカゴン細胞は YFP の intensity がグルカゴン細胞に比し低いと考えられ両者を区別して採取でき、その後の網羅的解析に利用し、グルカゴンからインスリン細胞への誘導因子を見出せる可能性がある。

さて、このインスリン/グルカゴン細胞がヒト移植膵島にも出現するかは興味深く、それを明らかにするために STZ 糖尿病免疫不全マウス (NOD/scid) の鼠径部皮下脂肪組織内 (ISWAT) に移植したヒト膵島を検索した。驚くべきことにヒト移植膵島

内グルカゴン細胞の5-6割がインスリン/グルカゴン細胞であった。インスリン/グルカゴン細胞においてそれぞれの顆粒が同一細胞質内に存在するのを検証するために皮下脂肪組織内移植膵島を免疫電顕で観察した。具体的にはインスリン抗体、グルカゴン抗体に大きさの異なる gold particle(12 vs 18nm)を標識し、電顕切片に作用させ、観察した。その結果、電子密度の低い顆粒と高い顆粒が同一細胞質内に隣接して存在し、前者がインスリン抗体 12 nm particle に後者がグルカゴン抗体 18nm particle に結合することが判明した。これらは生物学的に興味深い知見で、この細胞がどのような性格を有するのか、同一細胞質内でインスリンとグルカゴンがどのようにプロセッシングされているのか、今後の大きな研究テーマである。

・皮下脂肪組織内移植膵島における  $\beta$  細胞関連メッセージの網羅的解析 (RNAseq)ならびに qPCR

皮下脂肪組織内移植膵島のインスリン含有量が経時的に増加する知見より、移植膵島  $\beta$  細胞量の増加(再生)、同時に移植膵島  $\beta$  細胞関連メッセージの増幅が想定された。これらを明らかにするために移植後経時的に移植膵島  $\beta$  細胞関連メッセージを網羅的に RNAseq で、更には qPCR で解析した。

その結果、単離膵島をコントロールとして移植後60および120日移植膵島を比較すると、移植後60日で *Neurogenin3* (*Ngn3*) が、移植後120日で *Nkx6.1*, *Glp1r*, *Pdx1*, *Ins1*, *Ins2*, *Mafa*, *Gipr*, *Neug3* の発現が有意に増加していた。*Ngn3* は  $\beta$  細胞前駆細胞、*Nkx6.1*, *Glp1r*, *Pdx1*, *Ins1*, *Ins2*, *Mafa*, は成熟  $\beta$  細胞に発現する分子である。

これらの内、*ins1*, *ins2*, *Ngn3*, *Pdx1* につき、qPCR で検証した。その結果、RNAseq と同様に、移植後60日に *Ngn3* が、移植後120日では *ins1*, *ins2*, *Pdx1*, *Ngn3* が有意に上昇していた。

・皮下移植膵島に発現する *Ngn3* 陽性細胞の解析

*Ngn3* の蛋白レベルの発現を見るために、移植後経時的に皮下脂肪組織内移植膵島を摘出し、4%PFA で固定、パラフィン切片を作成し、蛍光免疫染色で観察した。抗 *Ngn3* 抗体は米国 UCSF の Michael German より供与を受けた。その結果、移植後60日で主にインスリン陽性細胞の核に *Ngn3* 陽性細胞が散見され、120日では更に多くのインスリン陽性細胞核が *Ngn3* 陽性であった。これらの所見は皮下脂肪組織内移植膵島に於ける移植後インスリン含有量増量に *Ngn3* が関与している可能性を示唆している。興味深い所見として、移植部位を皮下脂肪組織ではなく、腎被膜下にして同様に移植膵島を観察したが、*Ngn3* 陽性細胞は全く観察されなかった。

現在までに膵  $\beta$  細胞の起源に関して、*Ngn3*+前駆細胞から膵  $\beta$  細胞に分化する過程と膵  $\beta$  細胞自身から膵  $\beta$  細胞が生じるという説がある。後者の場合、膵  $\beta$  細胞には多様性 (heterogeneity) があり、幹細胞となる  $\beta$  細胞が存在することになる。これらを明らかにすることは生物学に極めて重要である。この観点より現在、*Ngn3* の発現を GFP で同定できる *Ngn3*-GFP マウスを実験に使用し、以下の解析を進めている。*Ngn3*-GFP マウスは埼玉医大松本征仁博士より供与を受けた。

・*Ngn3*-GFP マウス膵臓より単離した膵島を STZ 糖尿病レシピエントの皮下脂肪組織内に移植、経時的に移植膵島を摘出、直ちに dispase で分散し、得られた単細胞集団から FACS-sorting で GFP 陽性細胞を採取し、RNAseq で網羅的にメッセー

ジを解析する。対照として、野生型および Ngn3-GFP マウス単離膵島から得られた単細胞、Ngn3-GFP マウス移植膵島からの単細胞で GFP 陰性細胞を用いている。

これらの実験より  $\beta$  細胞から  $\beta$  細胞が生じる際の分子の同定、更にはその相互メカニズムの解明が期待できる。

## (2) 膵島移植後経時的皮下脂肪組織に発現するレシピエント由来インスリン産生細胞の同定、解析

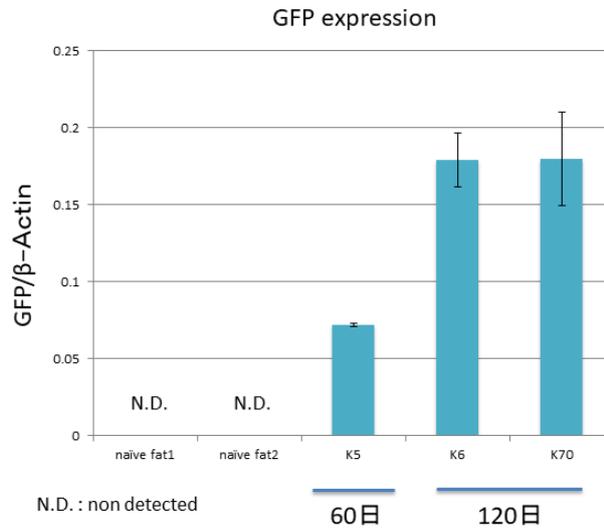
### ・膵島移植部位である皮下脂肪組織の RNAseq による解析

(1) で記載したように皮下脂肪組織内膵島移植後に見られる移植膵島インスリン含有量の増加に関して、膵島移植部位である皮下脂肪組織から分泌される因子が関与している可能性があり、それを明らかにする目的で膵島移植後経時的に移植部位である皮下脂肪組織を摘出し、RNAseq による解析を行った。この際、重要な点は移植膵島を 100%除去する必要があった。幸いにもこの移植法では移植膵島が径1-2mmの集塊を形成して生着する特性があり、実体顕微鏡下に移植膵島を十分に認識でき、切除することができた。得られた結果は驚くべきことに、対照として用いたナイーブマウス皮下脂肪組織に比し、膵島移植後60日、120日脂肪では膵島細胞関連メッセージ (*Nkx6.1*, *Glp1r*, *Pdx1*, *Ins1*, *Ins2*, *Mafa*, *Gipr*, *Neug3*, *Glu*, *somato*, *PP*) が有意に上昇していた。これらの所見は皮下脂肪組織内に**レシピエント由来膵島細胞**が新たに出現した可能性を示唆している。

### ・Mouse insulin promoter (MIP)-GFP マウスを用いた解析

上記で得られた膵島移植後皮下脂肪組織内でのレシピエント由来膵島細胞出現の有無を明らかにするために MIP-GFP マウスを膵島移植レシピエントとする実験を行った。MIP-GFP マウスはジャクソン研究所から購入した。もし、野生型膵島移植後の皮下脂肪組織内にGFP陽性細胞が出現すればその細胞はレシピエント由来インスリン細胞であることの確証となる。

野生型膵島400個をSTZ糖尿病 MIP-GFP マウスの皮下脂肪組織内に移植し、移植後60と120日に皮下脂肪組織を摘出し、ウエスタンブロットで GFP 蛋白の同定を試みた。対照としてナイーブ MIP-GFP マウスの皮下脂肪組織を、また内因性対照として $\beta$ -actin(43kDa)を用い、測定値はGFP/ $\beta$ -actinで表した。その結果、対照の脂肪組織では全くなかった GFP バンド(27kDa)が移植後60日で認められるようになり、更には120日でさらに増強して認められた。



次にSTZ糖尿病 MIP-GFP レシピエントへの膵島移植後皮下脂肪組織を移植後120日に摘出し、4%PFAで固定、パラフィン切片を作成し蛍光免疫染色でGFP、インスリン、グルカゴンの発現を検索した。その結果、移植膵島近傍の皮下脂肪組織内にGFPとインスリン共に陽性の細胞を観察できた。この細胞は単細胞で一つの切片で少なくとも2-3個は存在していた。

この知見は膵島移植後の皮下脂肪組織内にレシピエント由来インスリン産生細胞が出現したことの確証である。

- レシピエント由来インスリン産生細胞の発現数を増強する因子の探索  
上記の STZ 糖尿病 MIP-GFP マウスレシピエントの皮下脂肪組織内に野生型膵島を移植後に皮下脂肪組織内に出現する GFP<sup>+</sup>インスリン<sup>+</sup>細胞に関し、その発現数増加を誘導する因子の探索を行った。

① 高脂肪食 (High Fat Diet: HFD)の効果

ヒトでは肥満に伴い膵臓内膵島が肥大する。マウスに於いても HFD を給餌すると肥満、糖尿病となり、その過程において生じるインスリン抵抗性に起因して膵島が肥大する。この成因は解明されていないが、結果として膵島内β細胞数が増加することが知られている。従って、MIP-GFP レシピエントへの膵島皮下脂肪組織内移植後に HFD を給餌すると皮下脂肪組織内に出現する GFP<sup>+</sup>インスリン<sup>+</sup>細胞数が増加する可能性がある。これらを明らかにするために STZ 糖尿病 MIP-GFP マウスレシピエント皮下脂肪組織内に膵島を移植後30日より HFD を給餌、移植後120日に皮下脂肪組織を摘出し、通常の餌を給餌したマウス(Control Diet: CD)を対照にウエスタンブロットで GFP 蛋白の発現を比較した。この実験を開始する前に、予備実験として wild-type C57BL/6 ならびに MIP-GFP マウス(C57BL/6 background)に HFD vs CD を給餌し、HFD の効果を確認した。実験の結果は野生型膵島移植後に HFD vs CD を給餌した MIP-GFP マウスレシピエントの皮下脂肪組織の GFP 発現に差異は認められなかった。

② 妊娠の効果

膵臓内膵島が生理的に肥大する現象がみられるモデルとして妊娠がある。妊娠に伴い、膵臓内膵島のみならず膵島移植後の皮下脂肪組織内に於いてもインスリン産生細胞数が増加する可能性がある。この事を検証するために雌の MIP-GFP マウスに野生型膵島の皮下脂肪組織内移植90日後に、雄と交配し、妊娠出産後に移植部位皮下脂肪組織を摘出し、ウェスタンブロットおよび蛍光免疫染色で GFP の増強があるか実験を進めており、現在結果待ちである。

③ 慢性拒絶反応によって惹起される炎症の効果

別のプロジェクトで免疫抑制剤を用いずにマウス膵島移植部位局所(皮下脂肪組織)の移植前治療のみで膵島同種移植拒絶反応の制御法開発に成功している(78<sup>th</sup>Scientific Sessions of American Diabetes Association 2018; oral presentation)。この新規手法により得られた拒絶反応制御は全身性というより局所免疫不答によるものであるということが判明した。その移植後60日の組織像でグラフト周囲にリンパ球の集積があり、驚くべきことにその中にインスリン<sup>+</sup>グルカゴン<sup>+</sup>単細胞が観察された。

この細胞はレシピエント由来である可能性があり、現在 MIP-GFP マウス、ならびに GlucagonCreROSA26eYFP マウスをレシピエントして検証している。後者マウスは Glucagon 陽性細胞に YFP が標識されており、グルカゴンと YFP で染色される細胞が存在すればそのグルカゴン陽性細胞はレシピエント由来であることの確証となる。

- 膵島移植後皮下脂肪組織内に出現するレシピエント由来インスリン産生細胞の誘導因子探索

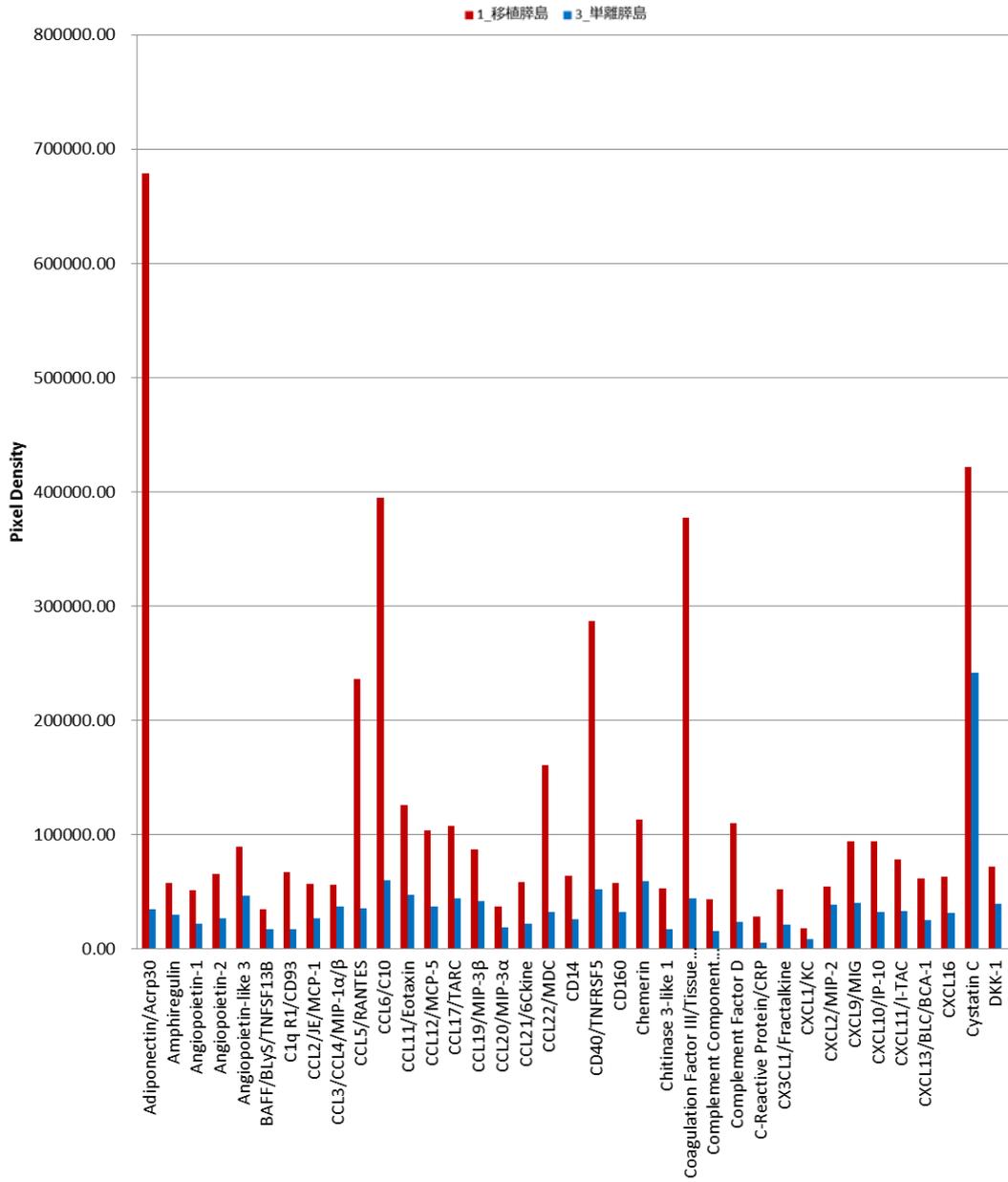
① 抗体アレーによる出現蛋白の網羅的解析

移植後120日膵島 vs 単離膵島、移植後120日皮下脂肪組織 vs ナイーブマウスの皮下脂肪組織を用いて、それぞれから蛋白を抽出し抗体アレーを用いた網羅的解析により、全111項につき、比較群間に差異がないか検索した。

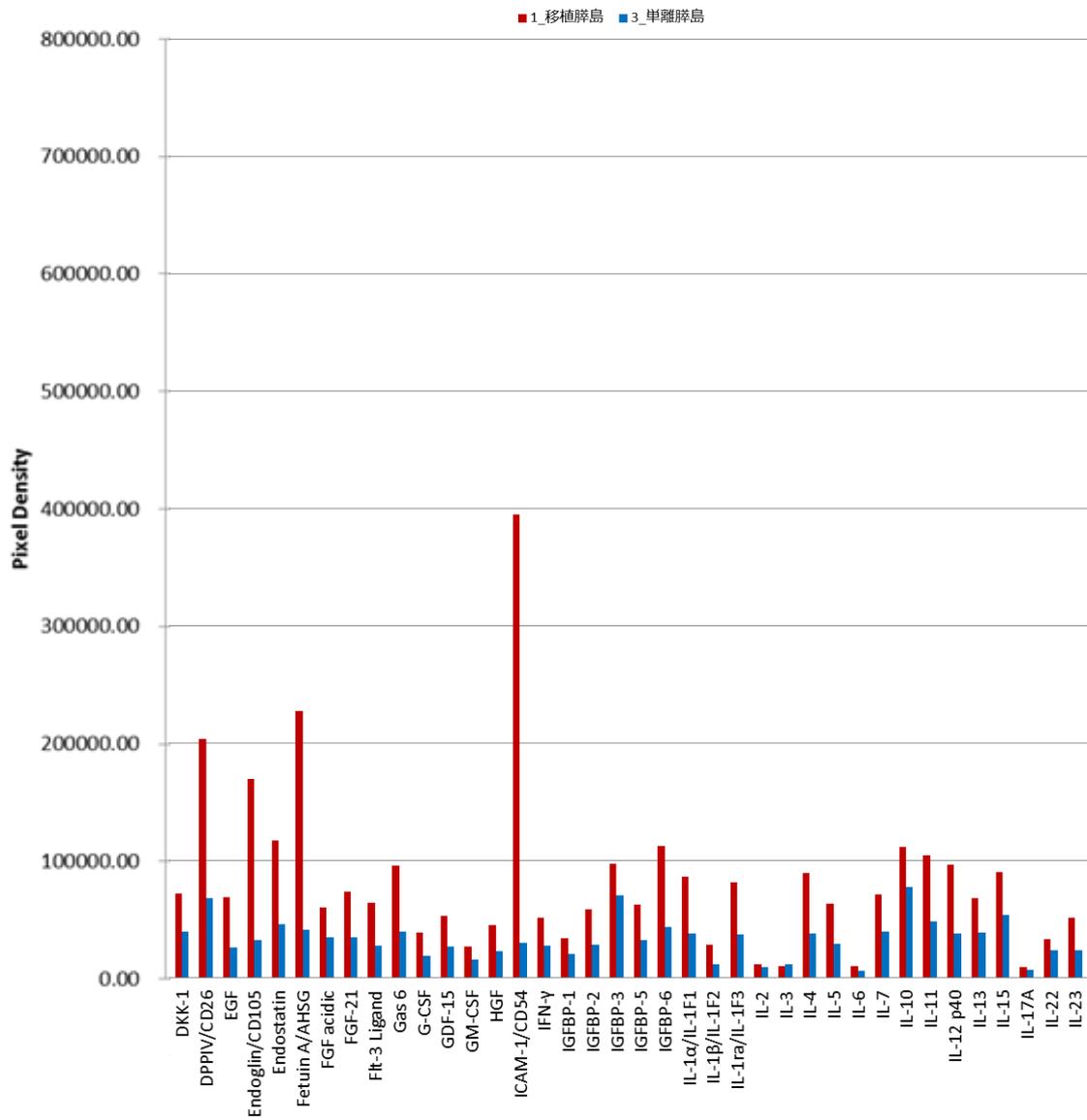
- 移植膵島 vs 単離膵島

移植膵島に顕著に増加していた蛋白: adiponectin, CCL5, CCL6, tissue factor, CD54 (ICAM1)、serpin F1

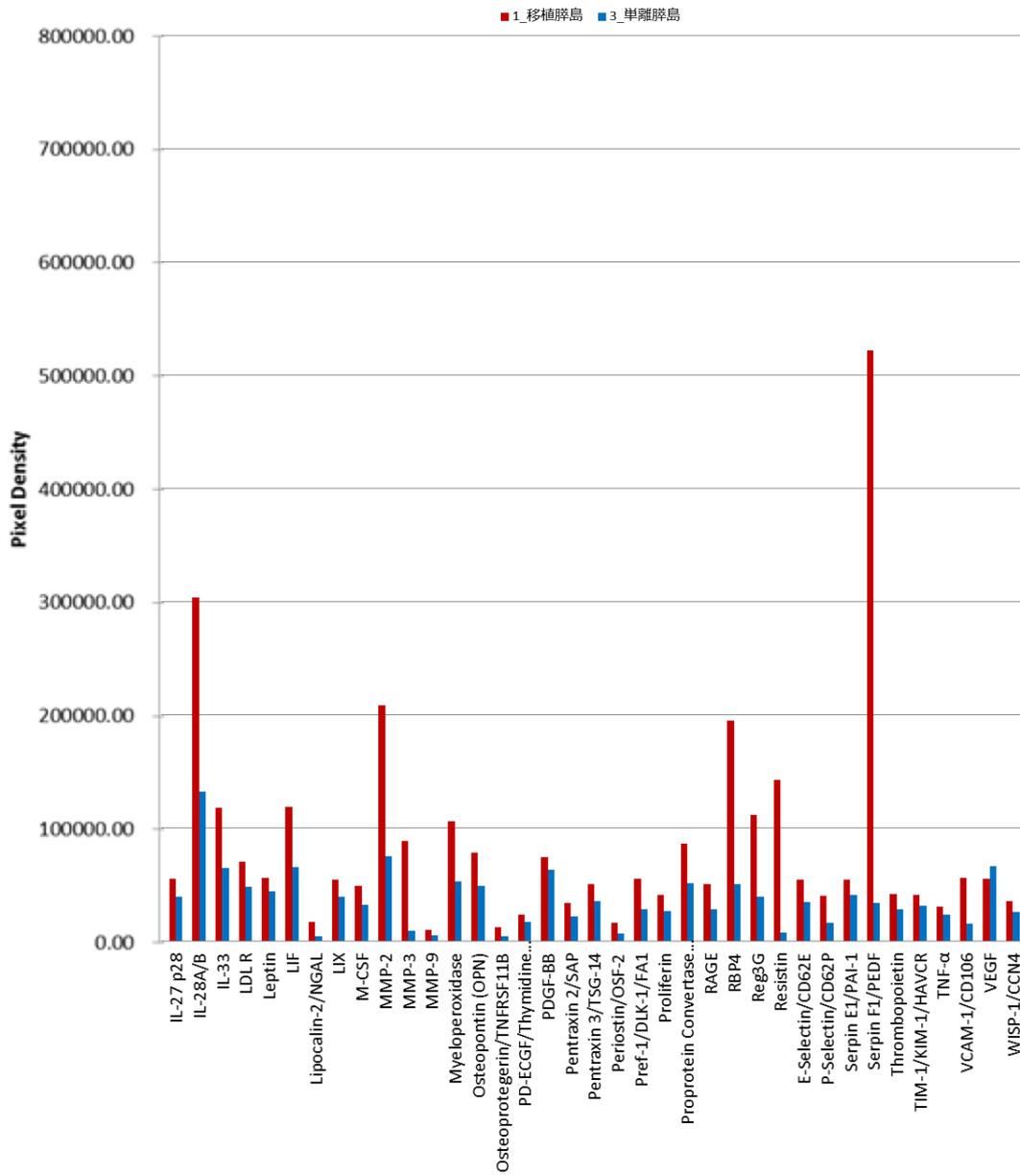
### マウス細胞抽出液におけるターゲットタンパク質の発現量比較



### マウス細胞抽出液におけるターゲットタンパク質の発現量比較



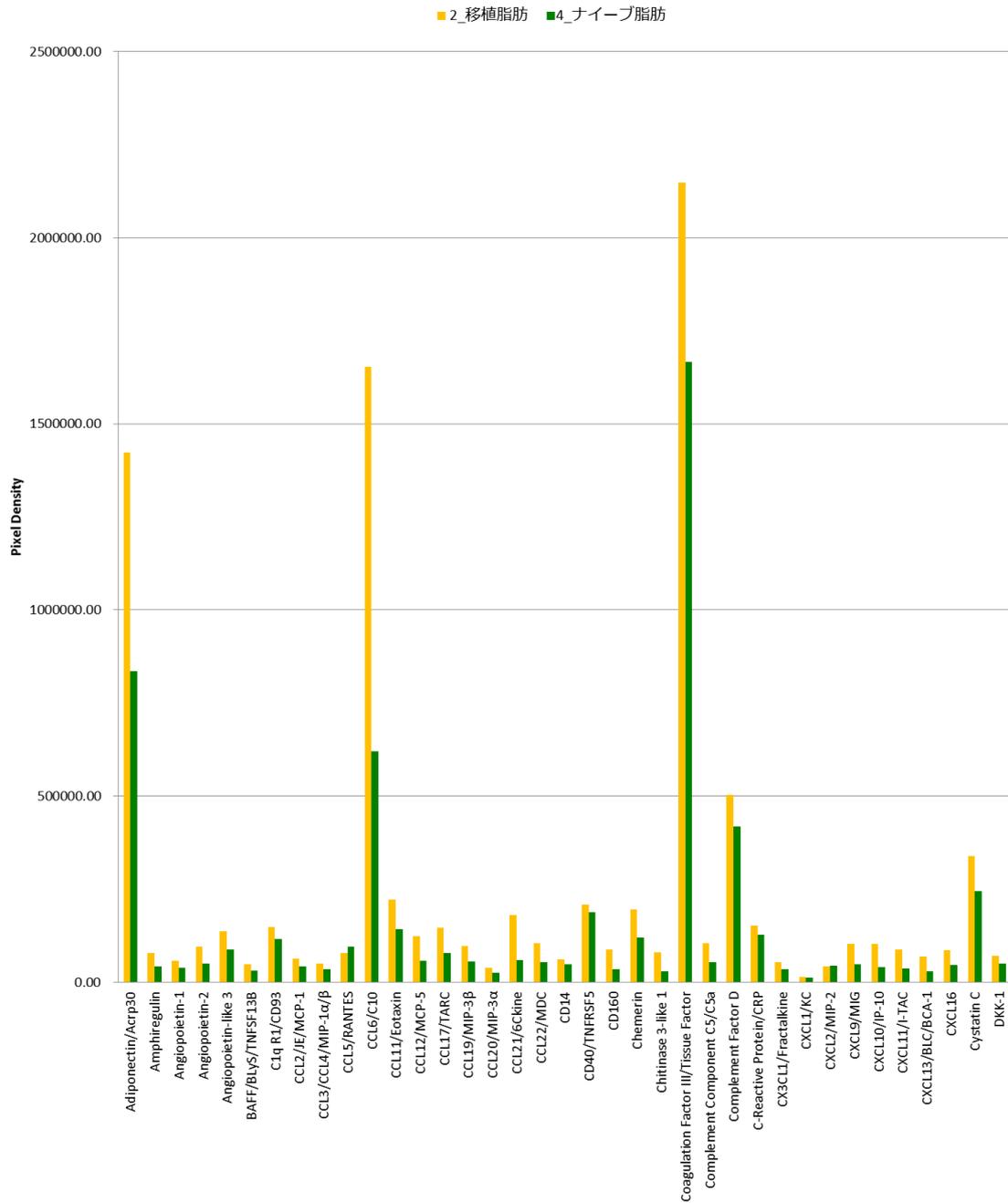
### マウス細胞抽出液におけるターゲットタンパク質の発現量比較



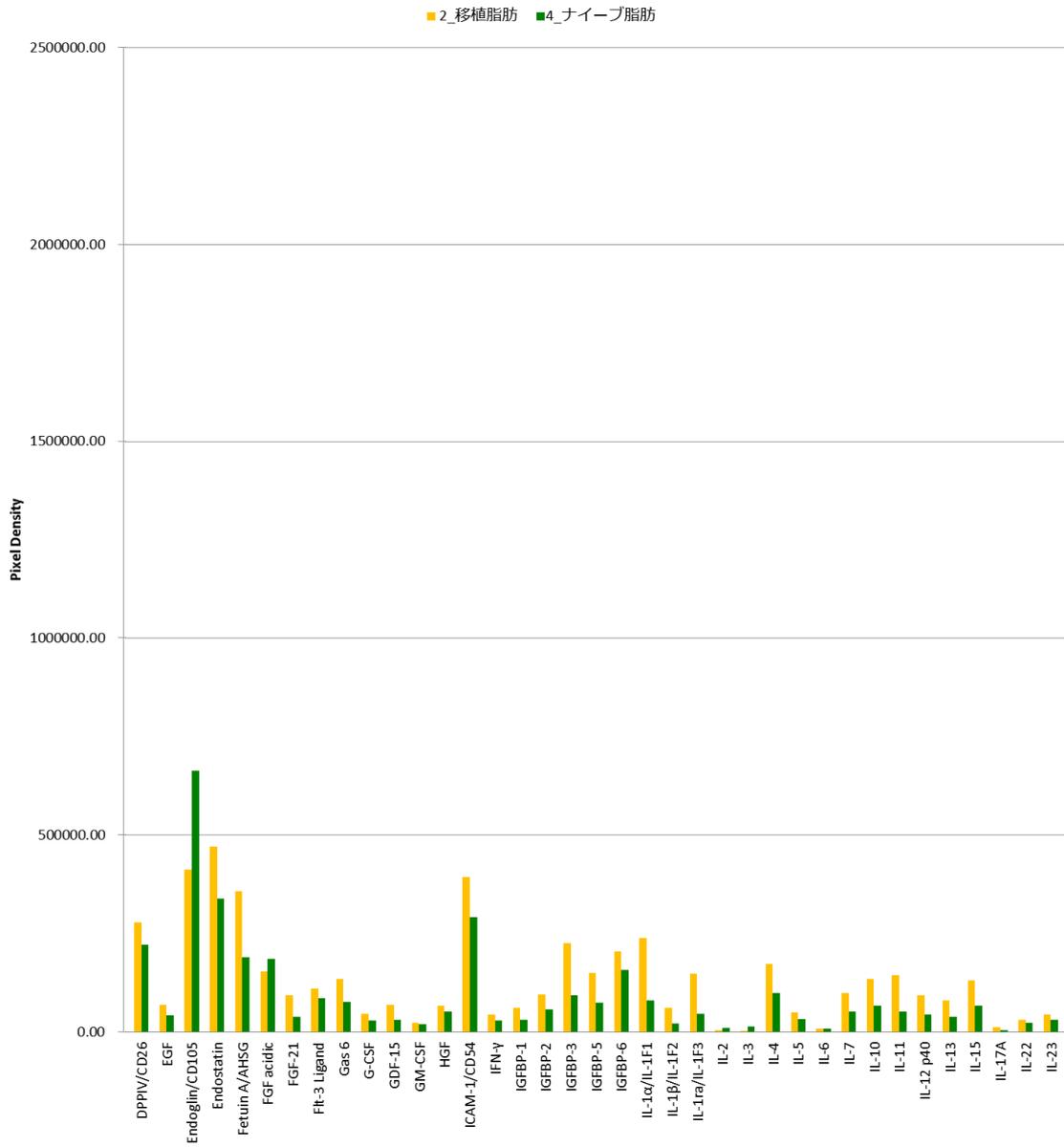
・移植皮下脂肪組織 vs ナイーブ皮下脂肪組織

移植脂肪に顕著に増加していた蛋白: adiponectin, CCL6, serpin F1

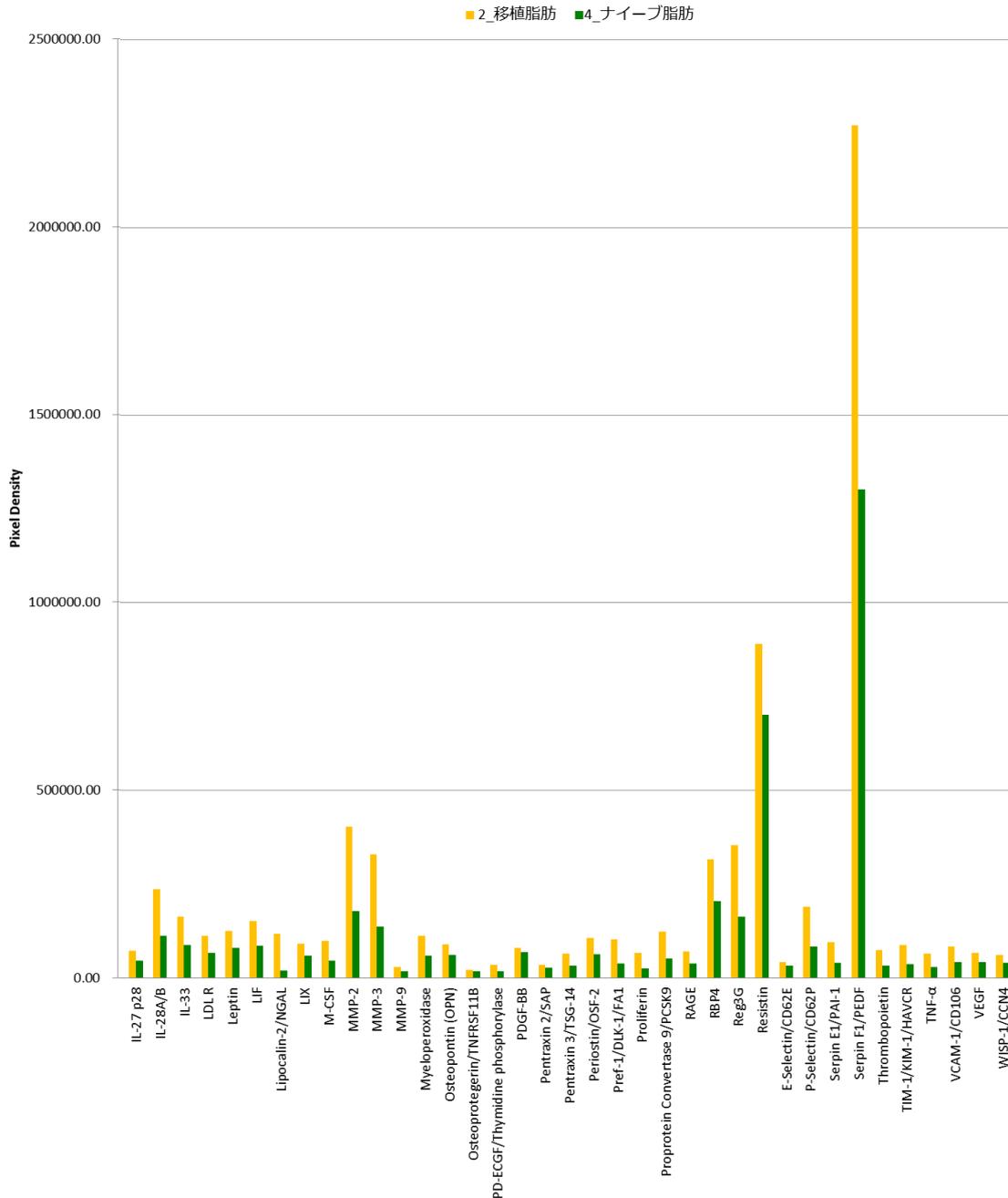
### マウス細胞抽出液におけるターゲットタンパク質の発現量比較



## マウス細胞抽出液におけるターゲットタンパク質の発現量比較



## マウス細胞抽出液におけるターゲットタンパク質の発現量比較



上記所見は両者に共通する **adiponectin**, **CCL6**, **serpin F1** の3因子が関与している可能性を強く示唆している。

今後、3 因子またはそれぞれの受容体欠損マウスを使用し、MIP-GFP マウスと交配し、上記移植モデルでレシピエント由来インスリン産生細胞が出現するか検証する必要がある。

#### 4. 皮下脂肪組織と単離膵島を用いた in vitro 実験系の開発

マウス単離膵島と皮下脂肪組織の長期培養による再生因子の解明

##### ・膵島を移植した皮下脂肪組織の培養

この実験の目的は単離膵島と MIP-GFP マウス皮下脂肪組織の培養により、in vitro で GFP<sup>+</sup>insulin<sup>+</sup>細胞の誘導因子を見出すことにある。その為の手法として野生型膵島と MIP-GFP マウス皮下脂肪組織の混合培養、更には in vivo の状況を反映させ、野生型膵島を糖尿病 MIP-GFP マウス皮下脂肪組織内に移植し、1週間後に移植膵島を含む皮下脂肪組織を摘出し、プラスチックペトリ皿にいれ、長期培養する実験を進めた。in vitro での GFP<sup>+</sup>insulin<sup>+</sup>細胞の発現はウエスタンブロット及び免疫染色による GFP 蛋白の同定、PCR での GFP メッセージの検出を指標とした。

この方法は言わば脂肪組織の器官培養といえるもので培養方法、条件の検定が必要で前者は培養液量と脂肪組織内酸素濃度、後者は主に培養液グルコース濃度についてである。また最も困難な点は長期培養を要することで in vivo では GFP<sup>+</sup>insulin<sup>+</sup>細胞の出現まで90日以上を要している。単離膵島と皮下脂肪組織の培養は摘出組織の培養による primary culture でコンタミネーションを生じる頻度が高い。実際には膵島単離、脂肪組織摘出はクリーンベンチ内で実施し、感染防止には十分配慮し、培地交換(2回/週)を行った。しかしながら当初実験で培養50日目にコンタミネーションを起こし、実験を中断した。原因としてインキュベーターが共用である点が上げられ、現在専用のクリーンベンチ、インキュベーターを準備して実験を進めている。

ヒト単離膵島とヒト皮下脂肪組織の培養に関しては当初は米国から搬送されたヒト膵島と福岡大学病院で術後廃棄予定の皮下脂肪組織を使用する計画であったが、当然のことながら両者の主組織適合抗原が異なり、それぞれに含まれるリンパ球が反応増殖する可能性がある。それでヒト膵島の免疫不全マウス皮下脂肪組織への移植、ならびに混合培養でマウスインスリン<sup>+</sup>細胞が出現しないか in vivo ならびに in vitro で解析している

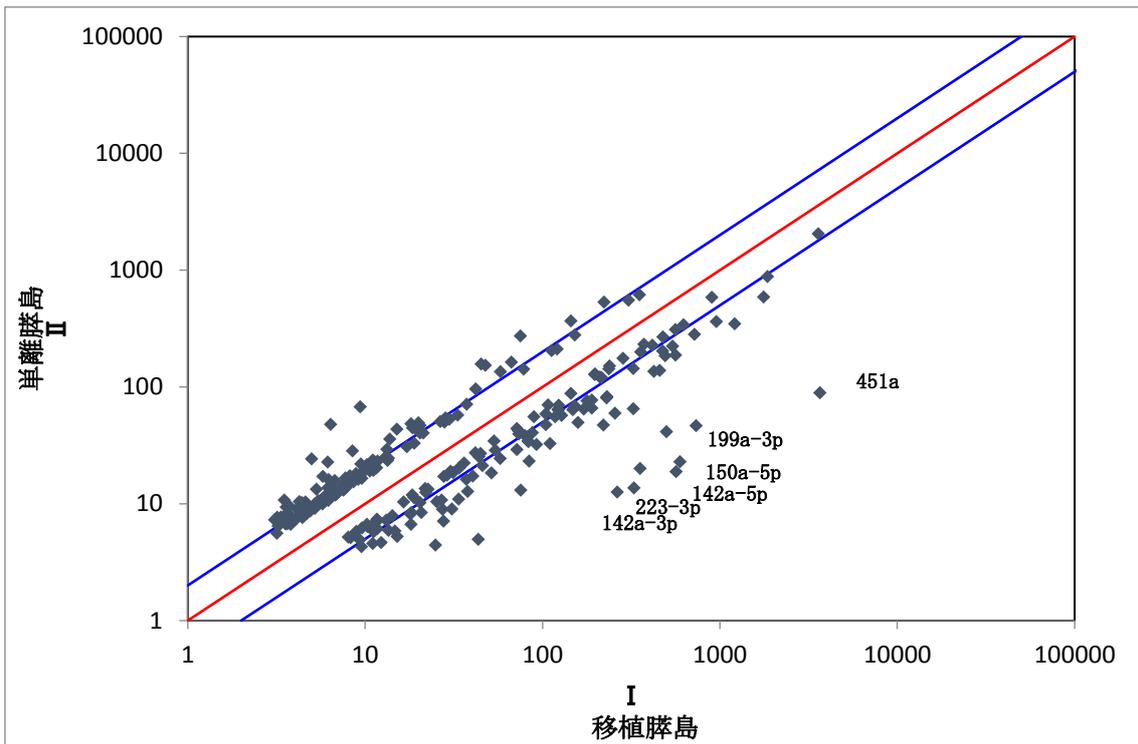
#### 5. 周囲脂肪組織の網羅的 mRNA 解析による幹細胞ならびに再生因子同定

##### (1) miRNA の網羅的解析

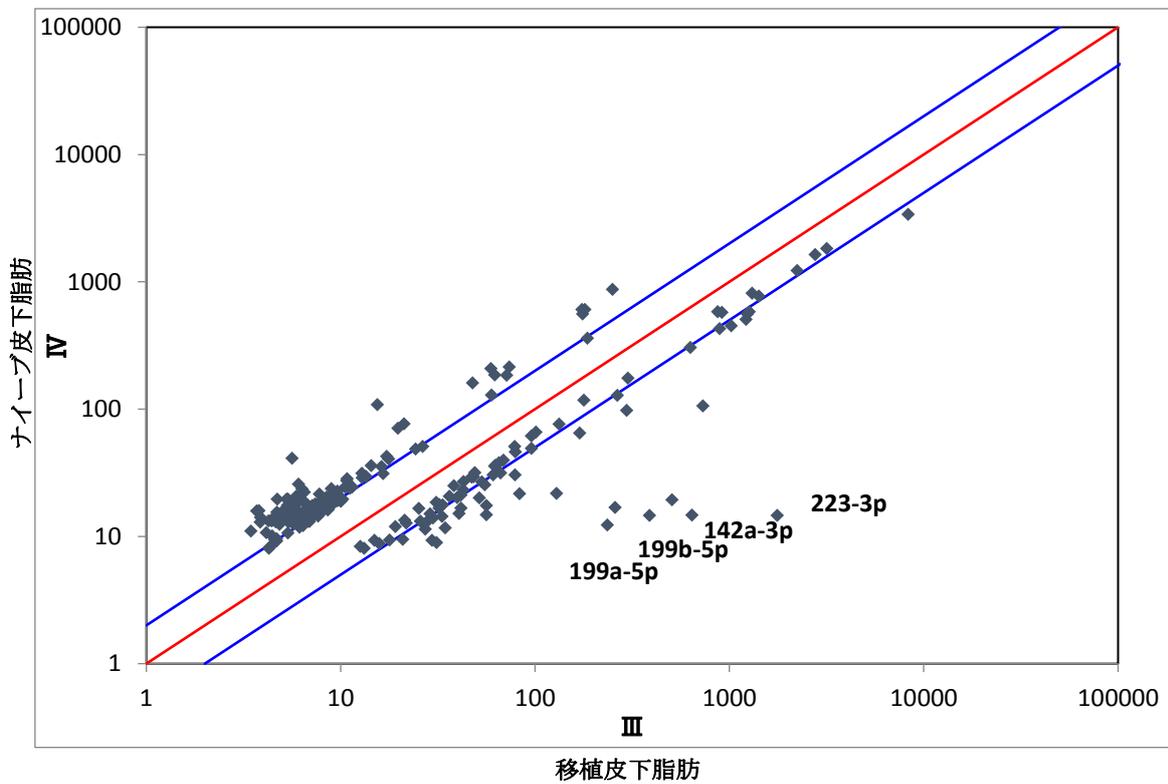
レシピエント由来インスリン細胞出現を担う因子に関して、抗体アレーによる蛋白検索以外に最近細胞間クロストーク因子としてエクソソームに含まれる miRNA が注目されている。本研究に於いては移植後120日膵島 vs 単離膵島、移植後120日皮下脂肪組織 vs ナイブ皮下脂肪組織を用いて、それぞれに発現する miRNA を網羅的に解析し、比較群間に差異がないか検索した。

##### ・移植膵島 vs 単離膵島

移植膵島に多く発現していた miRNA: 451a, 199a-3p, 150-5p, 142-5p, 199b-5p, 223-3p, 142-3p



- ・ 移植脂肪 vs ナイーブ脂肪  
 移植脂肪に多く発現していた miRNA: 223-3p, 142a-3p, 199a-3p, 199b-5p, 155-5p, 199a-5p



## 6. 再生因子の効果検証、機序解析

5で得られたデータを基に現在以下の実験を進めている。

miRNA に関しては各 miRNA のアゴニスト、アンタゴニストが市販されており、入手が可能である。これらの製剤を膵島移植の代わりに MIP-GFP マウス皮下脂肪組織内に持続投与し、レシピエント由来インスリン(GFP<sup>+</sup>insulin<sup>+</sup>)細胞出現の有無を検定することにより、miRNA の効果を明らかにすることができる。ただ、問題はデリバリーシステムであるが、エストロゲンなどの長期持続投与(>90 日)ではホルモン剤を含有するデリバリー型タブレットが市販されており、そのシステムを利用することができる。当初、候補アゴニストを全て含有するタブレットを MIP-GFP マウスの皮下脂肪組織内に埋込み、経時的に GFP<sup>+</sup>insulin<sup>+</sup>細胞が出現するか検定する。陽性所見が得られれば次に一つずつ除いた miRNA を投与により同様に検定し、主要因子を同定する。更に見出された主要因子の効果を検定するためにノックアウトマウスを作成し、ドナーもしくは MIP-GFP と交配して得られたマウスをレシピエントとして使用し、主要因子を確定する。

## 7. 成果

申請者は長年に渡り、糖尿病に対する移植医療、中でも膵島(細胞)移植の臨床課題の解決を目指した研究に従事してきた。膵島移植は1型糖尿病の根治を目的に従来のインスリン治療ではなく、インスリン産生細胞を移植し、移植膵島β細胞より分泌されるインスリンにより、レシピエント高血糖を是正し、血糖値を正常範囲に維持する治療法である。従来、移植部位として肝臓(経皮経門脈的肝内)が選択されているが、肝臓特有の自然免疫拒絶反応で移植膵島が破壊される、肝内移植膵島の生検、画像評価、摘出が困難、拒絶反応の予知ができないなどの課題があった。これらは全て肝臓が移植部位であることに起因しており、肝臓以外への移植方法(部位)の開発が強く望まれていた。今回の我々の研究により鼠径部皮下脂肪組織が肝臓に替わる優れた新規膵島移植部位として機能することが明らかとなった。具体的には移植後糖尿病レシピエントの血糖正常化に必要なドナー膵島数は肝内移植の 1/2、CT で移植膵島の可視化、摘出が可能となった。今回はマウス実験系で得られた成果であるが今後は臨床応用を想定し、大動物での研究成果が待たれるが、成功すれば臨床膵島移植に画期的進歩となる。

上記研究の過程で STZ 糖尿病マウスの高血糖が肝臓内移植では正常化しない少ないドナー膵島数を用いた皮下脂肪組織内移植により、徐々に是正され正常血糖になることが判明した。その成因として移植膵島再生もしくは皮下脂肪組織内に新たなインスリン産生細胞創生の可能性が考えられ、両者について検討した。その結果、以下の2つの重要な知見が得られた。

(1)皮下脂肪組織内移植膵島は移植後60日から120日にかけてβ細胞関連メッセージ(*Nkx6.1*, *Glp1r*, *Pdx1*, *Ins1*, *Ins2*, *Mafa*, *Gipr*, *Neug3*, *Glu*, *somato*, *PP*)が増幅され、インスリン含有量が増加する。また、移植膵島内β細胞がその前駆細胞マーカーである Neurogenin3 を発現するようになる。

(2)膵島移植後90日から120日にかけて、膵島移植部位である皮下脂肪組織内にレシピエント由来のインスリン産生細胞が出現する。

(1)はドナー膵島内β細胞からβ細胞の再生、(2)はレシピエント皮下脂肪組織内での新たなβ細胞の創生を示している。これらは糖尿病の再生医療として開発が進められているES細胞、iPS細胞からインスリン産生細胞を創生し、移植に用いる治療法とは全く異なり、患者自身の生体内で膵β細胞再生が可能であることを示した画期的成果である。

## 8. 課題

移植膵β細胞からβ細胞を生じる機序、特にNgn3陽性β細胞、ならびに皮下脂肪組織内に出現するレシピエント由来β細胞がどのような特徴を持つ細胞であるかの検討は今後の課題である。前者はNgn3-GFPマウス膵島をドナー、野生型マウスをレシピエントに、後者は野生型膵島をドナーにMIP-GFPマウスをレシピエントに用いて、移植後Ngn3-GFP陽性細胞、MIP-GFP陽性細胞をそれぞれの組織より単離(FACS-sorting)し、解析することにより明らかにすることができる。

また、移植膵島再生、皮下脂肪組織内レシピエント由来β細胞創生はいずれも移植膵島と皮下脂肪組織のクロストークによるものと考えられ、それぞれの因子に関し、両組織の網羅的解析により、前者では特異的発現蛋白、後者ではmiRNAの候補を抽出できたが、3年間の研究期間では特定には至らず、今後の課題となった。

## 9. 今後の展望

本研究成果で判明した膵臓以外での膵β細胞創生の誘導因子が見出されれば糖尿病の画期的な新規治療薬の開発に繋がり、臨床応用に至れば社会的貢献度は測り知れず、今後製薬企業との連携を視野に入れて研究を進めたい。

## 10. 業績

### ◆原著

安波 洋一

1. Yasunami Y, Nakafusa Y, Nitta N, Nakamura M, Goto M, Ono J, Taniguchi M. A novel subcutaneous site of islet transplantation superior to the liver. Transplantation. 2018 in press.
2. Tanaka T, Kojima D, Mera T, Matsumoto M, Yasunami Y, Yanase T. Expansion of transplanted islets in mice by co-transplantation with adipose tissue- derived mesenchymal stem cells. Heliyon. 2018 in press.
3. Hirata Y, Kobayashi T, Nishiumi S, Yamanaka K, Nakagawa T, Fujigaki S, Iemoto T, Kobayashi M, Okusaka T, Nakamori S, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Kaneda T, Kato T, Yagihara K, Fujita S, Yamada T, Honda K, Azuma T, Yoshida M. Identification of highly sensitive biomarkers that can aid the early detection of pancreatic cancer using GC/MS/MS-based targeted metabolomics. Clin Chim Acta. 468: 98-104, 2017
4. Yoneyama T, Ohtsuki S, Honda K, Kobayashi M, Iwasaki M, Uchida Y, Okusaka T, Nakamori S, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Kaneda T, Kato T, Yagihara K, Fujita S, Huang W, Yamada T, Tachikawa M, Terasaki T. Identification of IGFBP2 and IGFBP3 as Compensatory Biomarkers for CA19-9 in Early-Stage Pancreatic Cancer Using a Combination of Antibody-based and LC-MS/MS-based Proteomics. PLoS One. 11(8): e0161009
5. Inada A, Inada O, Fujii NL, Nagafuchi S, Katsuta H, Yasunami Y, Matsubara T, Arai H, Fukatsu A, Nabeshima YI. Adjusting the 17  $\beta$ -Estradiol-to-Androgen Ratio Ameliorates Diabetic Nephropathy. J Am Soc Nephrol. 27(10): 3035-50, 2016
6. Honda K, Kobayashi M, Okusaka T, Rinaudo JA, Huang Y, Marsh T, Sanada M, Sasajima Y, Nakamori S, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Miura N, Kamita M, Sakamoto T, Shoji H, Jung G, Srivastava S, Yamada T. Plasma biomarker for detection of early stage pancreatic cancer and risk factors for pancreatic malignancy using antibodies for apolipoprotein-AII isoforms. Sci Rep. 5: 15921, 2015
7. Takeshige N, Yin G, Ohnaka K, Kono S, Ueki T, Tanaka M, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Maekawa T, Yasunami Y, Takenaka K, Ichimiya H, Terasaka R. Associations between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and colorectal cancer risk and effect modifications of dietary calcium and vitamin D in a Japanese population. Asian Pac J Cancer Prev. 16(5): 2019-26, 2015
8. Itoh T, Nitta T, Nishinakamura H, Kojima D, Mera T, Ono J, Kodama S, Yasunami Y. HMGB1-mediated early loss of transplanted islets is prevented by anti-IL-6R antibody in mice. Pancreas. 44(1): 166-71, 2015

柳瀬 敏彦

9. Tanaka T, Kojima D, Mera T, Matsumoto M, Yasunami Y, Yanase T. Expansion of transplanted islets in mice by co-transplantation with adipose tissue- derived mesenchymal stem cells. Heliyon. 2018 in press.
10. Akehi Y, Hashimoto Y, Meren J, Tanabe M, Nomiyama T, Yanase T. Postpartum hypothalamic adrenal insufficiency with remission: A rare case. Endocr J. 64: 157-62, 2017

11. Hamanoue N, Tanabe M, Tanaka T, Akehi Y, Murakami J, Nomiyama T, Yanase T. A higher score on the Aging Males' Symptoms scale is associated with insulin resistance in middle-aged men. *Endocr J.* 64: 521–30, 2017
12. Iwaya C, Nomiyama T, Komatsu S, Kawanami T, Tsutsumi Y, Hamaguchi Y, Horikawa T, Yoshinaga Y, Yamashita S, Tanaka T, Terawaki Y, Tanabe M, Nabeshima K, Iwasaki A, Yanase T. Exendin-4, a Glucagonlike Peptide-1 Receptor Agonist, Attenuates Breast Cancer Growth by Inhibiting NF- $\kappa$ B Activation. *Endocrinology* 158: 4218–32, 2017
13. Tanabe M, Motonaga R, Terawaki Y, Nomiyama T, Yanase T. Prescription of oral hypoglycemic agents for patients with type 2 diabetes mellitus: A retrospective cohort study using a Japanese hospital database. *J Diabetes Investig.* 8:227–234, 2017
14. Yanase T, Kawanami T, Tanaka T, Tanabe M, Nomiyama T. Impact of metabolic disorders on prostate cancer growth: Androgen and insulin resistance perspectives. *Reprod Med Biol.* 16: 252–7, 2017
15. Fukuda T, Tanaka T, Hamaguchi Y, Kawanami T, Nomiyama T, Yanase T. Augmented GH secretion and Stat3 phosphorylation in an aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP)-disrupted somatotroph cell line. *PLOS ONE.* 11(10): e0164131, 2016
16. Tanabe M, Motonaga R, Terawaki Y, Nomiyama T, Yanase T. Prescription of oral hypoglycemic agents for patients with type 2 diabetes mellitus: A retrospective cohort study using a Japanese hospital database. *J Diabetes Investig.* 2016
17. Nishikawa T, Omura M, Kawaguchi M, Takatsu A, Satoh F, Ito S, Kurihara I, Itoh H, Yanase T, Shibata H, Oki Y, Naruse M, Sakurai K, Sasamoto H, Kuwa K. Calibration and evaluation of routine methods by serum certified reference material for aldosterone measurement in blood. *Endocr J.* 63(12): 1065–80, 2016
18. Morooka N, Ueguri K, Yee KK, Yanase T, Sato T. Androgen-androgen receptor system improves chronic inflammatory conditions by suppressing monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in adipocytes via transcriptional regulation. *Biochem Biophys Res Commun.* 477(4): 895–901, 2016
19. Yanase T, Tajima T, Katabami T, Iwasaki Y, Tanahashi Y, Sugawara A, Hasegawa T, Mune T, Oki Y, Nakagawa Y, Miyamura N, Shimizu C, Otsuki M, Nomura M, Akehi Y, Tanabe M, Kasayama S. Diagnosis and treatment of adrenal insufficiency including adrenal crisis: a Japan Endocrine Society clinical practice guideline. *Endocr J.* 63: 765–84, 2016
20. Hirano M, Wada-Hiraie O, Fu H1, Akino N, Isono W, Sakurabashi A, Fukuda T, Morita Y, Tanikawa M, Miyamoto Y, Nishi Y, Yanase T, Harada M, Oishi H, Yano T, Koga K, Oda K, Kawana K, Fujii T, Osuga Y. The Emerging Role of FOXL2 in Regulating the Transcriptional Activation Function of Estrogen Receptor  $\beta$  An Insight Into Ovarian Folliculogenesis. *Reprod Sci.* 2016
21. Dong Z, Huang M, Liu Z, Xie P, Dong Y, Wu X, Qu Z, Shen B, Huang X, Zhang T, Li J, Liu J, Yanase T, Zhou C, Xu Y. Focused screening of mitochondrial metabolism reveals a crucial role for a tumor suppressor Hbp1 in ovarian reserve. *Cell Death Differ.* 23(10): 1602–14, 2016
22. Cho SH, Chung KW, Kim JO, Jang H, Yoo JK, Choi Y, Ko JJ, Kim JH, Nishi Y, Yanase T, Lee WS, Kim NK. Association of miR-146aC>G, miR-149C>T, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of recurrent implantation failure in Korean women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 202:14–9, 2016
23. 重岡 徹、野見山崇、高田彩子、村瀬邦崇、元永綾子、田邊真紀人、柳瀬敏彦 2型糖尿病患者における DPP-4 阻害薬テネリグリプチンの血糖変動に対する効果の検討 日本体質医学会雑誌 78(1): 18–24, 2016
24. Watanabe T, Ashida K, Goto K, Nawata H, Takayanagi R, Yanase T, Nomura M.

- Dehydroepiandrosterone-enhanced dual specificity protein phosphatase (DDSP) prevents diet-induced and genetic obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 468: 196–201, 2015
25. Tsutsumi Y, Nomiyama T, Kawanami T, Hamaguchi Y, Terawaki Y, Tanaka T, Murase K, Motonaga R, Tanabe M, Yanase T. Combined Treatment with Exendin-4 and Metformin Attenuates Prostate Cancer Growth. *PLoS One.* 10: e0139709, 2015
  26. Tanabe M., Nomiyama T, Motonaga R, Murase K, Yanase T. Reduced vascular events in type 2 diabetes by biguanide relative to sulfonylurea: study in a Japanese Hospital Database. *BMC Endocr Disord.* 15: 49, 2015
  27. Terawaki Y, Nomiyama T, Takahashi H, Tsutsumi Y, Murase K, Nagaishi R, Tanabe M, Kudo T, Kobayashi K, Yasuno T, Nakashima H, Yanase T. Efficacy of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin in patients with type 2 diabetes undergoing hemodialysis. *Diabetol Metab Syndr.* 7: 44, 2015
  28. Nagafuchi S, Kamada-Hibio Y, Hirakawa K, Tsutsu N, Minami M, Okada A, Kai K, Teshima M, Moroishi A, Murakami Y, Umeno Y, Yokogawa Y, Kogawa K, Izumi K, Anzai K, Iwakiri R, Hamaguchi K, Sasaki N, Nohara S, Yoshida E, Harada M, Akashi K, Yanase T, Ono J, Okeda T, Fujimoto R, Ihara K, Hara T, Kikuchi Y, Iwase M, Kitazono T, Kojima F, Kono S, Kurisaki H, Kondo S, Katsuta H. TYK2 Promoter Variant and Diabetes Mellitus in the Japanese. *EBioMedicine.* 2(7): 744–9, 2015
  29. Tanabe M, Akehi Y, Nomiyama T, Murakami J, Yanase T. Total testosterone is the most valuable indicator of metabolic syndrome among various testosterone values in middle-aged Japanese men. *Endocrine J.* 62(2): 123–32, 2015
  30. Tachibana S, Shiota K, Futata T, Nagata Y, Yamashita H, Yanase T. Evaluation of the Clinical Features of Infertile Women with Subclinical Hypothyroidism in relatively high-iodine-intake area. *J Endocrinol Metab.* 5(3): 211–4, 2015
  31. Aoyagi N, Umemoto G, Nomiyama T, Yoshimura C, Ohta C, Miyazaki S, Murase K, Nagaishi R, Yanase T, Kikuta T. Short-term Effects of Prosthetic Mandibular Advancement on Glycemic Control in Diabetic Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Med. Bull. Fukuoka Uni.* 42(1): 145–52, 2015
  32. Aoyagi N, Umemoto G, Nomiyama T, Yoshimura C, Ohta C, Miyazaki S, Murase K, Nagaishi R, Watanabe K, Yanase T, Kikuta T. Rapid improvement of blood glucose level after prosthetic mandibular advancement in a patient with diabetes mellitus and obstructive sleep apnea. *Diabetes Research-Open J.* 67–71, 2015
  33. 釜田充浩、窪田明子、敷島友喜、井上亜紗美、兼重晋、野見山崇、緒方憲太郎、柳瀬敏彦、神村英利 週1回型GLP-1受容体作動薬デュラグルチドにおける切り替え時の有効性と安全性の評価 くすりと糖尿病 6: 193–200, 2017
  34. 橋正剛、城田京子、柳瀬敏彦 不妊と薬 エキスパートが教える薬物治療の“知識”と“ノウハウ” 種々疾患を有する児を希望する不妊患者へのアプローチ 甲状腺機能異常×女性不妊 薬局 68: 329–33, 2017
  35. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 二次性糖尿病といかに向き合うか クッシング・サブクリニカルクッシング症候群に伴う糖尿病. 月刊糖尿病 9: 23–30, 2017
  36. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 妊婦の内分泌代謝異常 Cushing 症候群と妊娠 内分泌・糖尿病・代謝内科 44: 358–61, 2017
  37. 福田高士、田中智子、濱口百合子、野見山崇、柳瀬敏彦 GH産生腺腫においてAIPの欠失はStat3のリン酸化の亢進を介しGH分泌を亢進させる 日本内分泌学会雑誌 93: 48–51, 2017
  38. 明比祐子、柳瀬敏彦 安全で効果的なステロイド療法 ステロイドの副作用 発現時期とその特徴 臨牀と研究 94: 795–9, 2017
  39. 野見山崇、高橋弘幸、柳瀬敏彦 糖尿病診療の trends & topics 2017 SGLT2 阻害薬

- は糖尿病診療の救世主となりうるか? *Mebio* 34: 58-66, 2017
40. 野見山崇、小松志保、重岡徹、野田智弘、岩屋智加予、堤陽子、柳瀬敏彦 インクレチンと癌 糖尿病診療の新たな敵に立ち向かう *日本内科学会雑誌* 79: 88-94, 2017
  41. 野見山崇、柳瀬敏彦 インスリン分泌促進系薬 インスリン分泌促進薬の併用療法 インクレチン関連薬+SU 受容体作動薬 糖尿病の最新治療 9: 20-5, 2017
  42. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病薬・インスリン治療 知りたい、基本と使い分け 経口薬?インスリン?薬剤の特徴を掴み、血糖管理に強くなる! (第4章)病棟・救急で困る、こんなときどうする? ステロイド糖尿病の早期発見と治療について教えてください レジデントノート 19: 2041-7, 2017
  43. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病と動脈硬化 成因と治療 糖尿病病態における内皮細胞と血管平滑筋細胞の機能障害 糖尿病 60: 478-80, 2017
  44. Nomiya T, Yanase T. GLP-1 receptor agonist as treatment for cancer as well as diabetes: beyond blood glucose control. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism* 11: 357-4, 2016
  45. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 内分泌疾患を診きわめる 副腎皮質機能低下症、Addison 病を含む *medicina* 53 (13): 2212-5, 2016
  46. 柳瀬敏彦 海外文献紹介「Reduced Vascular Events un Type 2 Diabetes by Biguanide Relative t Sulfonylurea: Study in a Japanese Hospital Database *BMCEndcr Disord* 15: 49, 2015」 *Diabetes rintier* 27(1): 121-2, 2016
  47. 柳瀬敏彦 海外文献紹介「Combined Treatment with Exendin-4 and Metformin Attenuates Prostate Cancer Growth *PLoS One* 19:e39709, 2015 *Diabetes Frontier* 27(3): 404-5, 2016
  48. 柳瀬敏彦 巻頭言「朝食を食べよう」 *肥満研究* 22: 73, 2016
  49. 柳瀬敏彦、明比祐子 Addison 病 内分泌代謝専門医ガイドブック (第4版) (診断と治療社) 編集: 成瀬光栄、平田結喜緒、島津 章 pp274-277, 2016
  50. 柳瀬敏彦、田邊真紀人、明比祐子 副腎クリーゼ 内分泌代謝専門医ガイドブック (第4版) (診断と治療社) 編集: 成瀬光栄、平田結喜緒、島津 章 pp278-279, 2016
  51. 柳瀬敏彦 副腎領域の進歩 *日本内科学会雑誌* 105(9): 1768-74, 2016
  52. 柳瀬敏彦 内分泌・代謝疾患の救急-初期対応のポイント 急性副腎不全 (副腎クリーゼ) *日本内科学会雑誌* 105(4) :640-5、2016
  53. 柳瀬敏彦 解説: 指定難病となった内分泌疾患 内分泌・糖尿病・代謝疾患 42(3): 218-23, 2016
  54. 柳瀬敏彦、牟田芳実、野見山崇、田邊真紀人 特集: 糖尿病と腎泌尿器疾患 テストステロンと糖尿病 腎臓内科・泌尿器科 3(6):603-9, 2016
  55. 柳瀬敏彦 特集: 男性のアンチエイジングとテストステロン テストステロンと肥満 *日本抗加齢医学雑誌* 12(3): 340-7, 2016
  56. 柳瀬敏彦 男性骨粗鬆症における選択的アンドロゲン受容体モジュレーター (SARM)の可能性 *CLINICAL CALCIUM* 26(7): 1023-30, 2016
  57. 柳瀬敏彦、大藪恵一、島津章 特集: 新たに難病指定された内分泌代謝疾患の臨床座談会「我が国の内分泌代謝領域における指定難病の現状と今後」 *最新医学* 71 (10) :1899-907、2016
  58. 柳瀬敏彦 特集: 新たに難病指定された内分泌代謝疾患の臨床 アジソン病 *最新医学* 71 (10) :1969-76、2016
  59. 柳瀬敏彦 特集・内分泌マスタークリニシャン: 患者説明のコツ アジソン病 ホルモンと臨床 62(8): 651-5, 2014 (発刊 2016 年)
  60. 柳瀬敏彦 選択的アンドロゲン受容体修飾剤とサルコペニア治療 *Hormone Frontier*

- in Gynecology 23(1): 79-86, 2016
61. 柳瀬敏彦, 田邊真紀人 代謝内分泌 副腎不全症 一度はその可能性を疑うべき内分泌疾患の代表 Hospitalist 4: 91-7, 2016
  62. 野田智穂、上野浩晶、山口秀樹、村瀬邦崇、野見山崇、橋口裕、山口美幸、鳥本桂一、森博子、岡田洋右、安西慶三、西尾善彦、柳瀬敏彦、中里雅光 リラグルチドの有効性に関する多施設共同観察研究 Diabetes Frontier 27(3): 388-91, 2016
  63. 野見山崇、重岡徹、小松志保、柳瀬敏彦 インクレチンは悪性腫瘍を抑制できるか: beyond the blood glucose control 尿酸と血糖 2(3): 138-41, 2016
  64. 朔啓二郎、三浦伸一郎、小川正浩、瀬川波子、野田慶太、中嶋恵美子、西尾美登里、安永晋一郎、柳瀬敏彦 食の多様性を追求する 日本機能性食品医学学会誌 10(1): 397-406, 2016
  65. 野見山崇、柳瀬敏彦 第3章 どうする? こんなときの治療と血糖コントロール 12 ステロイド投与患者の血糖コントロール 薬事 (臨時増刊号) 58(14): 3218-24, 2016
  66. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病合併症の対策 臨床と研究 93(1): 12-6, 2016
  67. 瀬川波子、野田慶太、上田智之、柳瀬敏彦、安永晋一郎、朔啓二郎 宅配食と栄養指導の組み合わせによる生活習慣改善 臨床栄養 128(7): 866-8, 2016
  68. 田邊真紀人、村瀬邦崇、元永綾子、野見山崇、柳瀬敏彦 新時代の臨床糖尿病学 (上)-より良い血糖管理をめざして- 血糖制御に関わる臓器・関連因子 副腎 日本臨床 74: 272-7, 2016
  69. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 その患者・その症例にいちばん適切な使い方がわかる ステロイド療法のエッセンス (第5章)患者背景別のステロイドの選び方・使い方 手術時 薬事 58: 2425-9, 2016
  70. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 実地医家が診る内分泌疾患 隠れた内分泌疾患を拾い出す 実地医家が知っておくべき内分泌疾患 副腎不全 クリーゼの危険も./Medical Practice 33:1745-9, 2016
  71. 田邊真紀人、野見山崇、柳瀬敏彦 血糖コントロールに効く「食事・運動・薬」究極の併用療法 私の(秘)処方組み合わせ術【エキスパートに学ぶ!私の(秘)処方の組み合わせ術 薬物療法ビッグアナイド薬 ビッグアナイド薬×初期治療 糖尿病ケア 13: 904-5, 2016
  72. 野見山崇、藤村由貴、高橋弘幸、柳瀬敏彦 心血管イベント抑制に対する新規糖尿病治療薬の最新知見 SGLT2 阻害薬の心血管イベント抑制に対するエビデンス. Diabetes Frontier 27: 779-85, 2016 2016.12
  73. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 特集: 高齢者の内分泌疾患を診療する際に気をつけること 10. 男性性腺機能低下症 内分泌・糖尿病・代謝内科 41(4): 299-305, 2015
  74. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 副腎偶発腫瘍の新しいマネジメント 腎臓内科・泌尿器科 2(4):339-45, 2015
  75. 柳瀬敏彦 特集: JSH2014 を考える: 内分泌から見た病態生理と治療 クッシング症候群に合併する高血圧 ホルモンと臨床 61(11): 863-7, 2013 (発刊 2015)
  76. 柳瀬敏彦、田邊真紀人、野見山崇 性差医療の最前線 -生活習慣病を中心に- 性ホルモンと代謝機能 日本臨床 73(4): 571-5, 2015
  77. 柳瀬敏彦、野見山崇 DHEA, DHEA-S 臨床検査ガイド 2015 改訂版 450-452, 2015
  78. 柳瀬敏彦、田邊真紀人 テストステロン、ジヒドロテストステロン 臨床検査ガイド 2015 改訂版 458-63, 2015
  79. 柳瀬敏彦、村瀬邦崇、永石綾子 アンドロステンジオン 臨床検査ガイド 2015 改訂版 443-5, 2015
  80. 柳瀬敏彦 副腎不全の基礎と臨床 Update Annual Review 2015 (編集: 寺内康夫、伊藤 裕、石橋 俊) 糖尿病・代謝・内分泌 pp192-197, 2015

81. 柳瀬敏彦 特集：ステロイドホルモンと骨-基礎から臨床まで- II.性ステロイドと骨代謝 10. 骨・筋を標的とした選択的アンドロゲン受容体モジュレーター(SARM)の開発現況 *The Bone* 28(5): 457-62, 2015
82. 柳瀬敏彦、村瀬邦崇、永石綾子、田邊真紀人、野見山崇 特集：LOH 症候群診療-最近の進歩 テストステロンと骨・筋肉 臨床泌尿器科 69(1): 46-52, 2015
83. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 肥満症の改善はなぜ、難しいのか?~ここまで明らかになった!病態解明と治療の最前線~ 診断・病態解明における最近のトピックス 内分泌疾患に続発する肥満症 日本内科学会雑誌 104: 690-6, 2015
84. 野見山崇、柳瀬敏彦 特集:糖尿病治療新時代 二次性糖尿病 日本臨床 73(12): 2008-12, 2015
85. 野見山崇、寺脇悠一、柳瀬敏彦 合併症：動脈硬化性疾患 内科 115: 627-31, 2015
86. 野見山崇、柳瀬敏彦 特集/2型糖尿病診療の新展開 2015 DPP4 阻害薬 臨床と研究 92(1): 31-6, 2015
87. 野見山崇、大田智加予、野田智弘、柳瀬敏彦 肥満 2 型糖尿病と癌発症 *Duabetes Frontier* 26(1), 2015
88. 野見山崇、柳瀬敏彦 21 世紀の糖尿病診療ブレイク・スルー *Beyond the BG control. くすりと糖尿病* 4: 6-10, 2015
89. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病と腎疾患 2015 糖尿病注射薬治療 超速効型・速効型インスリンの適応、種類と使用方法 腎と透析 78: 248-51, 2015
90. 野見山崇、村瀬邦崇、柳瀬敏彦 内科が使う自己注射薬 代謝・内分泌疾患の自己注射薬 インスリン療法の現在 診断と治療 103: 1134-40, 2015
91. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 ホルモン欠乏症に伴う低血糖症 内分泌・糖尿病・代謝内科 41: 188-91, 2015
92. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 糖尿病におけるクッシング症候群 クッシング症候群診療マニュアル(改訂第2版) 235-6, 2015
93. 田邊真紀人、明比祐子、柳瀬敏彦 補充療法とステロイドカバー 一冊できわめるステロイド診療ガイド 13-6, 2015
94. 田邊真紀人、明比祐子、柳瀬敏彦 ステロイド離脱症候群の臨床 一冊できわめるステロイド診療ガイド 23-4, 2015

#### 高木 誠司

95. 川上善久、衛藤明子、高木誠司、大慈弥裕之 性同一性障害および女性化乳房に対する乳房切除術 Hage 法への肥満が及ぼす影響と対策 *GDI (性同一性障害) 学会雑誌* 9: 9-15, 2017
96. Kaiji TS, Takamura Y, Hata S, Nukumizu K, Tamaoki S, Takagi S, Ohjimi H, Ishikawa H. Prevalence of Maxillary Lateral Incisors and Eruptive Direction of Maxillary Canine in Japanese Unilateral Cleft Lip and Alveolus and Unilateral Cleft Lip and Palate Patients. *Journal of Dentistry & Oral Disorders* Vol2, 2016
97. 川上善久、大山拓人、高木誠司、大慈弥裕之 形成外科手技をいかに創傷治癒に活用するか? 植皮術の適応拡大と限界~NPWT、bFGF との併用について~ 創傷 2(7): 55-64, 2016
98. 森田愛、井上真衣、大山拓人、川上善久、高木誠司、大慈弥裕之 漏斗胸における 3D 形状測定の現状 形成外科 59(10), 2016
99. 川上善久、高木誠司、大慈弥裕之 陰圧閉鎖療法の理論と実際 上肢に対する陰圧閉鎖療法-植皮の固定としての陰圧閉鎖療法- *PEPARS* 97,39-47,2015
100. 大慈弥裕之、高木誠司 乳房再建と美容外科-乳房再建における逆 T 字法での乳房縮小術- *PEPARS* 99,177-182,2015

101. 高木誠司、大慈弥裕之 小児形成外科～患児とその家族のスマイル回復と QOL 向上を求めて～ 福岡県小児科医報 53: 85-9, 2015
102. 大慈弥裕之、高木誠司、山中浩気 斜軸型腹直筋皮弁および前外側大腿皮弁を用いた thin flap による下腿・足部の機能的・整容的再建 PEPARS 106: 52-7,2015
103. 高木誠司、秋田定伯、大慈弥裕之 特集 乳幼児の健康指導～これまでとこれから～ 専門医受診を勧めたい形成外科疾患～頭蓋変形・埋没耳・多指症・あざなど～ 外来小児科 (3): 303-7, 2017
104. Akita S, Hayashida K, Takagi S, Kawakami Y, Oyama T, Ojini H. The neck burn scar contracture: a concept of effective treatment. Burns & Trauma 467-74, 2017

## 野見山 崇

105. Akehi Y, Hashimoto Y, Meren J, Tanabe M, Nomiyama T, Yanase T. Postpartum hypothalamic adrenal insufficiency with remission: A rare case. Endocr J. 64: 157-62, 2017
106. Hamanoue N, Tanabe M, Tanaka T, Akehi Y, Murakami J, Nomiyama T, Yanase T. A higher score on the Aging Males' Symptoms scale is associated with insulin resistance in middle-aged men. Endocr J. 64: 521-30, 2017
107. Iwaya C, Nomiyama T, Komatsu S, Kawanami T, Tsutsumi Y, Hamaguchi Y, Horikawa T, Yoshinaga Y, Yamashita S, Tanaka T, Terawaki Y, Tanabe M, Nabeshima K, Iwasaki A, Yanase T. Exendin-4, a Glucagonlike Peptide-1 Receptor Agonist, Attenuates Breast Cancer Growth by Inhibiting NF-kappaB Activation. Endocrinology. 158: 4218-32, 2017
108. Tanabe M, Motonaga R, Terawaki Y, Nomiyama T, Yanase T. Prescription of oral hypoglycemic agents for patients with type 2 diabetes mellitus: A retrospective cohort study using a Japanese hospital database. J Diabetes Investig. 8: 227-34, 2017
109. Yanase T, Kawanami T, Tanaka T, Tanabe M, Nomiyama T. Impact of metabolic disorders on prostate cancer growth: Androgen and insulin resistance perspectives. Reprod Med Biol. 16: 252-7, 2017
110. 釜田充浩、窪田明子、敷島友喜、井上亜紗美、兼重 晋、野見山崇、緒方憲太郎、柳瀬敏彦、神村英利 週 1 回型 GLP-1 受容体作動薬デュラグルチドにおける切り替え時の有効性と安全性の評価 くすりと糖尿病 6: 193-200, 2017
111. 野田智穂、上野浩晶、山口秀樹、村瀬邦崇、野見山崇、橋口 裕、山口美幸、鳥本桂一、森 博子、岡田洋右、安西慶三、西尾善彦、柳瀬敏彦、中里雅光 リラグルチドの有効性に関する多施設共同観察研究. Diabetes Frontier 27: 388-91, 2016
112. 重岡 徹、野見山崇、高田彩子、村瀬邦崇、元永綾子、田邊真紀人、柳瀬敏彦 2 型糖尿病患者における DPP-4 阻害薬テネリグリプチンの血糖変動に対する効果の検討. 日本体質医学会雑誌 78: 18-24, 2016
113. 山城慶子、金澤昭雄、篠宮真理、吉井秀徳、野見山崇、綿田裕孝、小沼富男 2 型糖尿病患者の糖・リポ蛋白代謝に対する特別な搗きかたによる三分搗き米(特搗き米)の改善効果 プラクティス 33: 372-7, 2016
114. Tanabe M, Motonaga R, Terawaki Y, Nomiyama T, Yanase T. Prescription of oral hypoglycemic agents for patients with type 2 diabetes mellitus: A retrospective cohort study using a Japanese hospital database. J Diabetes Investig. 2016
115. Fukuda T, Tanaka T, Hamaguchi Y, Kawanami T, Nomiyama T, Yanase T. Augmented Growth Hormone Secretion and Stat3 Phosphorylation in an Aryl Hydrocarbon Receptor Interacting Protein (AIP)-Disrupted Somatotroph Cell Line. PLoS One. 11: e0164131, 2016
116. Tsutsumi Y, Nomiyama T, Kawanami T, Hamaguchi Y, Terawaki Y, Tanaka T, Murase K,

- Motonaga R, Tanabe M, Yanase T. Combined Treatment with Exendin-4 and Metformin Attenuates Prostate Cancer Growth. PLoS One. 10: e0139709, 2015
117. Terawaki Y, Nomiyama T, Takahashi H, Tsutsumi Y, Murase K, Nagaishi R, Tanabe M, Kudo T, Kobayashi K, Yasuno T, Nakashima H, Yanase T. Efficacy of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin in patients with type 2 diabetes undergoing hemodialysis. Diabetol Metab Syndr. 7: 44, 2015
118. Tanabe M, Nomiyama T, Motonaga R, Murase K, Yanase T. Reduced vascular events in type 2 diabetes by biguanide relative to sulfonylurea: study in a Japanese Hospital Database. BMC Endocr Disord. 15: 49, 2015
119. Tanabe M, Akehi Y, Nomiyama T, Murakami J, Yanase T. Total testosterone is the most valuable indicator of metabolic syndrome among various testosterone values in middle-aged Japanese men. Endocr J. 62: 123-32, 2015
120. Aoyagi N, Umemoto G, Nomiyama T, Yoshimura C, Ohta C, Miyazaki S, Murase K, Nagaishi R, Watanabe K, Yanase T, Kikuta T. Rapid improvement of blood glucose level after prosthetic mandibular advancement in a patient with diabetes mellitus and obstructive sleep apnea. Diabetes Research-Open J. 67-71, 2015
121. Aoyagi N, Umemoto G, Nomiyama T, Yoshimura C, Ohta C, Miyazaki S, Murase K, Nagaishi R, Yanase T, Kikuta T. Short-term Effects of Prosthetic Mandibular Advancement on Glycemic Control in Diabetic Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. 福岡大学医学紀要/Medical Bulletin of Fukuoka University. 42(1): 145-52, 2015
122. 弘世貴久、大杉満、野見山崇、河盛段 低血糖を起こさないための外来でのインスリンによる血糖管理法 Diabetes Update 6: 68-76, 2017
123. 福田高士、田中智子、濱口百合子、野見山崇、柳瀬敏彦 GH 産生腺腫において AIP の欠失は Stat3 のリン酸化の亢進を介し GH 分泌を亢進させる 日本内分泌学会雑誌 93: 48-51, 2017
124. 野見山崇 新・相談コーナー せんせい教えてください！ 糖尿病患者さんには、がんが多いって本当ですか？(2 型糖尿病 15 年、70 歳、男性). さかえ: 月刊糖尿病ライフ 57: 52-3, 2017
125. 野見山崇, 高橋 弘幸, 柳瀬 敏彦 糖尿病診療の trends & topics 2017 SGLT2 阻害薬は糖尿病診療の救世主となりうるか? Mebio 34: 58-66, 2017
126. 野見山崇、小松 志保、重岡 徹、野田 智弘、岩屋 智加予、堤 陽子、柳瀬 敏彦 インクレチンと癌 糖尿病診療の新たな敵に立ち向かう. 日本体質医学会雑誌 79: 88-94, 2017
127. 野見山崇、柳瀬敏彦 インスリン分泌促進系薬 インスリン分泌促進薬の併用療法 インクレチン関連薬+SU 受容体作動薬. 糖尿病の最新治療 9:20-5, 2017
128. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病薬・インスリン治療 知りたい、基本と使い分け 経口薬?インスリン?薬剤の特徴を掴み、血糖管理に強くなる! (第 4 章)病棟・救急で困る、こんなときどうする? ステロイド糖尿病の早期発見と治療について教えてください. レジデントノート 19: 2041-7, 2017
129. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病と動脈硬化 成因と治療 糖尿病病態における内皮細胞と血管平滑筋細胞の機能障害. 糖尿病 60: 478-80, 2017
130. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 内分泌疾患を診きわめる 副腎疾患 ホルモン欠乏症 副腎機能低下症 副腎皮質機能低下症 Addison 病を含む. Medicina 53: 2212-5, 2016
131. 柳瀬敏彦、牟田芳実、野見山崇、田邊真紀人 糖尿病と腎泌尿器疾患 テストステロンと糖尿病. 腎臓内科・泌尿器科 3: 603-9, 2016
132. 野見山崇、柳瀬敏彦 こんなときどうしたらよいか“がわかる!もう困らない 病棟での血糖コントロール (第 3 章)どうする?こんなときの治療と血糖コントロール

- ステロイド投与患者の血糖コントロール.薬事 58: 3218-24, 2016
133. 野見山崇, 柳瀬敏彦 生活習慣病-新しい展開 糖尿病 糖尿病合併症の対策. 臨床と研究 93: 12-6, 2016
  134. 野見山崇, 藤村由貴, 高橋弘幸, 柳瀬敏彦 心血管イベント抑制に対する新規糖尿病治療薬の最新知見 SGLT2 阻害薬の心血管イベント抑制に対するエビデンス Diabetes Frontier 27: 779-85, 2016
  135. 野見山崇, 重岡徹, 小松志保, 柳瀬敏彦 悪性腫瘍と糖代謝、インスリン作用 インクレチンは悪性腫瘍を抑制できるか beyond the blood glucose control.尿酸と血糖 2: 138-41, 2016
  136. 野見山崇 疾患・指導・食事のすべてがわかる管理栄養士のとらのまき 糖尿病患者の病態・栄養指導・治療食 (第1章)糖尿病患者の病態生理と治療 糖尿病大血管症 Nutrition Care 30-2, 2016
  137. 野見山崇 疾患・指導・食事のすべてがわかる管理栄養士のとらのまき 糖尿病患者の病態・栄養指導・治療食 (第1章)糖尿病患者の病態生理と治療 糖尿病のそのほかの合併症 がん、認知症、歯周病.Nutrition Care 33-5, 2016
  138. 野見山崇 糖尿病とがん 迫り来る、糖尿病の新たな合併症 がん DM Ensemble 4: 7-10, 2016
  139. 野見山崇 新・相談コーナー せんせい教えてください! 尿の検査で何が分かるのでしょうか?(2型糖尿病、54歳、女性) さかえ 月刊糖尿病ライフ 56: 54-5, 2016
  140. 野見山崇 RECOMMENDATION 血糖管理の Now and Future beyond the BG control. Medicina 53: 1678-9, 2016
  141. 野見山崇 インクレチンの臓器保護効果 血管障害と癌 糖尿病合併症 30: 133-7, 2016
  142. 脇裕典, 野見山崇, 矢部大介, 平井洋, 柴田大河, 工藤宏仁, 津村和大 新しい治療法、未来の糖尿病診療について. さかえ: 月刊糖尿病ライフ 56: 8-13, 2016
  143. 小田原雅人, 阿古潤哉, 菅沼正司, 野見山崇, 宮内克己 SGLT2 阻害薬の適正使用に向けて 有害事象とその対策を中心に. Pharma Medica 34: 87-93, 2016
  144. 田邊真紀人, 野見山崇, 柳瀬敏彦 血糖コントロールに効く「食事・運動・薬」究極の併用療法 私の(秘)処方組み合わせ術 エキスパートに学ぶ!私の(秘)処方の組み合わせ術 薬物療法ビッグアナイド薬 ビッグアナイド薬×初期治療. 糖尿病ケア 13: 904-5, 2016
  145. 田邊真紀人, 村瀬邦崇, 元永綾子, 野見山崇, 柳瀬敏彦 新時代の臨床糖尿病学(上)-より良い血糖管理をめざして- 血糖制御に関わる臓器・関連因子 副腎 日本臨床 74: 272-7, 2016
  146. Nomiyama T, Yanase T. GLP-1 receptor agonist as treatment for cancer as well as diabetes: beyond glucose control. Expert Review of Endocrinology & Metabolism. 11(4): 357-64
  147. 野見山崇, 柳瀬敏彦 21世紀の糖尿病診療ブレイク・スルー Beyond the BG control.くすりと糖尿病 4: 6-10, 2015
  148. 野見山崇, 柳瀬敏彦 糖尿病と腎疾患 2015 糖尿病注射薬治療 超速効型・速効型インスリンの適応、種類と使用方法 腎と透析 78: 248-51, 2015
  149. 野見山崇, 柳瀬敏彦 糖尿病治療新時代-糖尿病治療の update- 糖尿病の診断と治療 二次性糖尿病 日本臨床 73: 2008-12, 2015
  150. 野見山崇, 柳瀬敏彦 2型糖尿病診療の新展開 2015 糖尿病治療 DPP-4 阻害薬 臨床と研究 92: 31-6, 2015
  151. 野見山崇, 大田智加予, 野田智弘, 柳瀬敏彦 肥満 2型糖尿病の実践的管理 肥満 2型糖尿病の特異病態 肥満 2型糖尿病と癌発症 Diabetes Frontier 26: 35-41, 2015

152. 野見山崇、村瀬邦崇、柳瀬敏彦 内科が使う自己注射薬 代謝・内分泌疾患の自己注射薬 インスリン療法の現在 診断と治療 103: 1134-40, 2015
153. 野見山崇、寺脇悠一、柳瀬敏彦 糖尿病治療 通説への挑戦 進化する科学知識は既存の糖尿病治療学に何を伝えたいのか 合併症 動脈硬化性疾患 内科 115: 627-31, 2015
154. 野見山崇 Second opinion-糖尿病専門医の立場から 病態に応じ理に適った低血糖のない血糖管理と、網羅的な診療が重要 CORE JOURNAL 循環器 5: 61, 2015
155. 野見山崇 せんせい教えてください！ 運動は体に良いと分かっているのですが、億劫(おっくう)でできません さかえ: 月刊糖尿病ライフ 55: 56-7, 2015
156. 野見山崇、野出孝一、有馬秀二 糖尿病性大血管障害 Controversy 糖尿病患者の心腎連関をどのように考えるか Cardio-Renal Diabetes 4: 74-85, 2015
157. 野見山崇、田嶋尚子、西村理明 SGLT2 阻害薬を用いた食後高血糖の是正と血糖変動の正常化を目指した 2 型糖尿病治療 Diabetes Frontier 26: 113-8, 2015
158. 野見山崇、田嶋尚子、石原寿光、西村理明 2 型糖尿病における最適な血糖降下薬の選択とは？ Pharma Medica 33: 67-72, 2015
159. 野見山崇、小田原雅人、森克仁 個別化治療を目指した 2 型糖尿病治療戦略 Pharma Medica 33: 131-6, 2015
160. 野見山崇、下畑享良、西澤正豊、卜部貴夫、名郷直樹 臨床現場で生じた疑問 糖尿病合併脳梗塞で慢性期の厳格な血糖管理は再発抑制に有効か?どの程度管理すべきか? CORE Journal 循環器 52-61, 2015
161. 野見山崇、井口登與志、弘世貴久、阿部信行、田仲秀明、福元良英、佐藤直市 広がる糖尿病治療の選択肢 これからの糖尿病治療を考える Progress in Medicine 35: 1631-7, 2015
162. 柳瀬敏彦、村瀬邦崇、永石綾子、田邊真紀人、野見山崇 LOH 症候群診療-最近の進歩 テストステロンと骨・筋肉. 臨床泌尿器科 69: 46-52, 2015
163. 柳瀬敏彦、田邊真紀人、野見山崇 性差医療の最前線-生活習慣病を中心に- 性差医療の基礎・臨床研究 性ホルモンと代謝機能 日本臨床 73: 571-5, 2015
164. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 肥満症の改善はなぜ、難しいのか?~ここまで明らかになった!病態解明と治療の最前線~ 診断・病態解明における最近のトピックス 内分泌疾患に続発する肥満症.日本内科学会雑誌 104: 690-6, 2015
165. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 高齢者の内分泌疾患を診療する際に気をつけること 男性性腺機能低下症 内分泌・糖尿病・代謝内科 41: 299-305, 2015
166. 柳瀬敏彦、野見山崇、田邊真紀人 副腎腫瘍の新しいマネジメント 副腎偶発腫瘍の新しいマネジメント 腎臓内科・泌尿器科 2: 339-45, 2015

岩本 隆宏、喜多 紗斗美

167. Tagashira H, Nagata A, Kita S, Suzuki S, Iwasaki A, Iwamoto T. Calcium signaling abnormality in pulmonary arterial hypertension. Med Bull Fukuoka Univ. 45(1): 45-50, 2018.
168. Moriguchi S, Kita S, Yabuki Y, Inagaki R, Izumi H, Sasaki Y, Tagashira H, Horie K, Takeda J, Iwamoto T, Fukunaga K. Reduced CaM Kinase II and CaM Kinase IV Activities Underlie Cognitive Deficits in NCKX2 Heterozygous Mice. Mol Neurobiol. 55(5): 3889-900, 2018
169. Bai X, Ihara E, Hirano K, Tanaka Y, Nakano K, Kita S, Iwamoto T, Ogino H, Hirano M, Oda Y, Nakamura K, Ogawa Y. Endogenous hydrogen sulfide contributes to tone generation in porcine lower esophageal sphincter via Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger. Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 5(3): 209-21, 2018
170. Moriguchi S, Kita S, Fukaya M, Osanai M, Inagaki R, Sasaki Y, Izumi H, Horie K, Takeda J, Saito T, Sakagami H, Saido TC, Iwamoto T, Fukunaga K. Reduced expression of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>

- exchangers is associated with cognitive deficits seen in Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology* 131: 291–303, 2018
171. Yamamoto S, Muramatsu M, Azuma E, Ikutani M, Nagai Y, Sagara H, Koo BN, Kita S, O'Donnell E, Osawa T, Takahashi H, Takano KI, Dohmoto M, Sugimori M, Usui I, Watanabe Y, Hatakeyama N, Iwamoto T, Komuro I, Takatsu K, Tobe K, Niida S, Matsuda N, Shibuya M, Sasahara M. A subset of cerebrovascular pericytes originates from mature macrophages in the very early phase of vascular development in CNS. *Sci Rep.* 7(1): 3855, 2017
  172. Nishiyama K, Tanioka K, Azuma YT, Hayashi S, Fujimoto Y, Yoshida N, Kita S, Suzuki S, Nakajima H, Iwamoto T, Takeuchi T. Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger contributes to stool transport in mice with experimental diarrhea. *J Vet Med Sci.* 79(2): 403–11, 2017
  173. Fujimoto Y, Hayashi S, Azuma YT, Mukai K, Nishiyama K, Kita S, Morioka A, Nakajima H, Iwamoto T, Takeuchi T. Overexpression of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger 1 display enhanced relaxation in the gastric fundus. *J Pharmacol Sci,* 132(3): 181–6, 2016
  174. Yamashita K, Watanabe Y, Kita S, Iwamoto T, Kimura J. Inhibitory effect of YM-244769, a novel Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger inhibitor on Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange current in guinea pig cardiac ventricular myocytes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol,* 389(11): 1205–14, 2016
  175. Nishiyama K, Azuma YT, Morioka A, Yoshida N, Teramoto M, Tanioka K, Kita S, Hayashi S, Nakajima H, Iwamoto T, Takeuchi T. Roles of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger isoforms NCX1 and NCX2 in motility in mouse ileum. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol,* 389(10): 1081–90, 2016
  176. Azuma YT, Hayashi S, Nishiyama K, Kita S, Mukai K, Nakajima H, Iwamoto T, Takeuchi T. Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger-heterozygote knockout mice display increased relaxation in gastric fundus and accelerated gastric transit in vivo. *Neurogastroenterol Motil,* 28(6): 827–36, 2016
  177. Wei J, Watanabe Y, Takeuchi K, Yamashita K, Tashiro M, Kita S, Iwamoto T, Watanabe H, Kimura J. Nicorandil stimulates a Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger by activating guanylate cyclase in guinea pig cardiac myocytes. *Pflugers Arch,* 468(4): 693–703, 2016
  178. Tashiro M, Watanabe Y, Yamakawa T, Yamashita K, Kita S, Iwamoto T, Kimura J. Suppressive Effect of carvedilol on Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange current in isolated guinea-pig cardiac ventricular myocytes. *Pharmacology,* 99(1–2): 40–7, 2016
  179. Kita S, Tagashira H, Gotoh Y, Fujii M, Iwamoto T. Phosphoinositide analysis using the HPLC system equipped with a fraction collector and the TSKgel SAX column. *Med. Bull. Fukuoka Univ.* 42(1): 175–81, 2015.
  180. Gotoh Y, Kita S, Tagashira H, Horie I, Arai Y, Uchida S, Iwamoto T. Genetic knockout and pharmacologic inhibition of NCX2 cause natriuresis and hypercalciuria. *Biochem Biophys Res Commun,* 456(2): 670–5, 2015
  181. Wang Y, Chen L, Li M, Cha H, Iwamoto T, Zhang J. Conditional knockout of smooth muscle sodium calcium exchanger type-1 lowers blood pressure and attenuates Angiotensin II-salt hypertension. *Physiol Rep.* 3(1): e12273(1–14), 2015

谷口 克

182. Dashtsoodol, N, Shigeura T, Tashiro T, Aihara M, Chikanishi T, Okada H, Hanada K, Sano H, Kurogi A, Taniguchi M. NKT cell-targeted cancer vaccine mediating long-term memory responses and strong antitumor activity. *Frontiers in Immunol.* 2017
183. Dashtsoodol, N, Shigeura T, Aihara M, Ozawa R, Kojo S, Harada M, Endo TA, Watanabe T, Ohara O, Taniguchi M. Alternative pathway for the development of V $\alpha$ 14<sup>+</sup> NKT cells

- directly from CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> thymocytes that bypasses the CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> stage. *Nature Immunol.* 18: 274–82, 2017
184. Dashtsoodol, N, Shigeura T, Ozawa R, Harada M, Kojo S, Watanabe T, Koseki H, Nakayama M, Ohara O, and Taniguchi M. Generation of novel Traj18-deficient mice lacking V $\alpha$ 4 natural killer T cells with an undisturbed T cell receptor  $\alpha$ -chain repertoire. *PLoS ONE* 11(4): e0153347, 2016
  185. Kaji T, Hijikata A, Ishige A, Kitami T, Watanabe T, Ohara O, Yanaka N, Okada M, Shimoda M, Taniguchi M, Takemori T. CD4 memory T cells develop and acquire functional competence by sequential cognate interactions and stepwise gene regulation. *Int Immunol.* 28: 267–82, 2016
  186. Haraguchi N, Kikuchi N, Morishima Y, Matsuyama M, Sakurai H, Shibuya A, Shibuya K, Taniguchi M, Ishii Y. Activation of murine invariant NKT cells promotes susceptibility to candidiasis by IL-10-induced modulation of phagocyte antifungal activity. *Eur J Immunol.* 46: 1691–703, 2016
  187. Kanda M, Yamanaka H, Kojo S, Usui Y, Honda H, Sotomaru Y, Harada M, Taniguchi M, Suzuki N, Atsumi T, Wada H, Baghdadi M, Seino K. Transcriptional regulator Bhlhe40 works as a cofactor of T-bet in the regulation of IFN- $\gamma$  production in iNKT cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 113: E3394–402, 2016
  188. Yasuoka T, Kuwahara M, Yamada T, Maruyama S, Suzuki J, Taniguchi M, Yasukawa M, Yamashita M. The Transcriptional Repressor Gfi1 Plays a Critical Role in the Development of NKT1- and NKT2-Type iNKT Cells. *PLoS One.* 11: e0157395, 2016
  189. Yamada D, Iyoda T, Vizcardo R, Shimizu K, Sato Y, Endo TA, Kitahara G, Okoshi M, Kobayashi M, Sakurai M, Ohara O, Taniguchi M, Koseki H, Fujii S. Efficient Regeneration of Human V $\alpha$ 24+ Invariant Natural Killer T Cells and Their Anti-Tumor Activity In Vivo. *Stem Cells* 34: 2852–60, 2016
  190. Satoh M, Namba KI, Kitaichi N, Endo N, Kitamei H, Iwata D, Ohno S, Ishida S, Onoé K, Watarai H, Taniguchi M, Ishibashi T, Stein-Streilein J, Sonoda KH, Van Kaer L, Iwabuchi K. *Experimental Eye Research.* 153: 79–89, 2016
  191. Yasuda T, Ura T, Taniguchi M, Yoshida H. Intradermal Delivery of Antigens Enhances Specific IgG and Diminishes IgE Production: Potential Use for Vaccination and Allergy Immunotherapy. *PLoS One* 11: e0167952, 2016
  192. Taniguchi M, Harada M, Dashtsoodol N, Kojo S. Review: Discovery of NKT cells and development of NKT cell-targeted anti-tumor immunotherapy. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* 91: 292–304, 2015
  193. Fujimura T, Fujinami K, Ishikawa R, Tateno M, Tahara Y, Okumura Y, Ohta H, Miyazaki H, Taniguchi M. Recombinant Fusion Allergens, Cry j 1 and Cry j 2 from Japanese Cedar Pollen, Conjugated with Polyethylene Glycol Potentiate the Attenuation of Cry j 1-Specific IgE Production in Cry j 1-Sensitized Mice and Japanese Cedar Pollen Allergen-Sensitized Monkeys. *Int Arch Allergy Immunol.* 168: 32–43, 2015
  194. Karisola P, Lehto M, Kinaret P, Ahonen N, Haapakoski R, Anthoni M, Taniguchi M, Wolff H, Puustinen A, Alenius H. Invariant Natural Killer T Cells Play a Role in Chemotaxis, Complement Activation and Mucus Production in a Mouse Model of Airway Hyperreactivity and Inflammation. *PLoS One* 10: e0129446. 2015
  195. Hata R, Izukuri K, Kato, Y, Sasak S, Mukaida N, Maehata Y, Miyamoto C, Akasaka T, Yang X, Nagashima Y, Takeda K, Kiyono T, Taniguchi M. Suppressed rate of carcinogenesis and decreases in tumour volume and lung metastasis in CXCL14/BRAK transgenic mice. *Science Report* 5: 9083, 2015

山本 靖彦

196. Nelissen T, Bamford RA, Tochitani S, Akkus K, Kudzinskas A, Yokoid K, Usui N, Okamoto H, Yamamoto Y, Burbach PH, Matsuzaki H, Oguro-Ando A. CD38 is required for dendritic organisation in visual cortex and hippocampus. *Neuroscience*. 2018 in press
197. Lam D, Theaker M, Momeni Z, Yamamoto Y, Jagadeeshan S, Campanucci VA. RAGE-dependent potentiation of TRPV1 currents in sensory neurons exposed to high glucose. *PLoS ONE*. 2018 in press
198. Higuchi T, Takeuchi, A, Munesue S, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Inatani H, Shimozaki S, Kato T, Aoki Y, Abe K, Taniguchi Y, Aiba H, Murakami H, Harashima A, Yamamoto Y, Tsuchiya H. Anti-tumor effects of a non-steroidal anti-inflammatory drug zaltoprofen on chondrosarcoma via activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma and suppressing matrix metalloproteinase-2 expression. *Cancer Med*. 2018 in press
199. Akther S, Zhong J, Liang M, Cherepanov SM, Lopatina O, Salmina AB, Tsuji C, Tsuji T, Yamamoto Y, Yokoyama S, Higashida H. CD38 in the nucleus accumbens is critical in paternal behavior in mice. *Messenger*. 2018 in press
200. Tsuji T, Liang M, Lopatina O, Yuhi T, Tsuji C, Zhong J, Akther S, Zhong J, Nishimura T, Amina S, Liu HX, Hashii M, Furuhashi K, Yamamoto Y, Yokoyama S, Higashida H. TRPM2, a new player, in cyclic ADP-ribose/CD38-dependent oxytocin release in the hypothalamus. *Messenger*. 2018 in press
201. Cherepanov S, Yokoyama S, Mizuno A, Ichinose W, Lopatina O, Shabalova A, Salmina A, Yamamoto Y, Okamoto H, Shuto S, Higashida H. Structure-specific effects of lipidated oxytocin analogs on intracellular calcium levels, parental behavior, plasma and cerebrospinal fluid oxytocin concentrations in mice. *Pharmacology Research & Perspectives*. 5(1): e00290, 2017
202. Aikawa T, Matsubara H, Ugaji S, Shirakawa J, Nagai R, Munesue S, Harashima A, Yamamoto Y, Tsuchiya H. Contribution of methylglyoxal to delayed healing of bone injury in diabetes. *Mol Med Rep*. 16(1): 402-9, 2017
203. Kwak T, Drews-Elger K, Ergonul A, Miller PC, Braley A, Hwang GH, Zhao D, Besser A, Yamamoto Y, Yamamoto H, El-Ashry D, Slingerland JM, Lippman ME, Hudson BI. Targeting of RAGE-ligand signaling impairs breast cancer cell invasion and metastasis. *Oncogene*. 36(11): 1559-72, 2017
204. Hattori T, Kaji M, Ishii H, Jureepon R, Takarada-Iemata M, Minh Ta H, Manh Le T, Konno A, Hirai H, Shiraishi Y, Ozaki N, Yamamoto Y, Okamoto H, Yokoyama S, Higashida H, Kitao Y, Hori O. CD38 positively regulates postnatal development of astrocytes cell-autonomously and oligodendrocytes non-cell-autonomously. *Glia*. 65(6): 974-89, 2017
205. Yamaguchi T, Fushida S, Yamamoto Y, Tsukada T, Kinoshita J, Oyama K, Miyashita T, Tajima H, Ninomiya I, Munesue S, Harashima A, Harada S, Yamamoto H, Ohta T. Low-dose paclitaxel suppresses the induction of M2 macrophages in gastric cancer. *Oncology Rep*. 37(6): 3341-50, 2017
206. Kim MJ, Vargas MR, Harlan BA, Killooy KM, Ball L, Comte-Walters S, Gooz M, Yamamoto Y, Beckman JS, Barbeito L, Pehar M. Nitration and glycation turn mature NGF into a toxic factor for motor neurons: a role for p75NTR and RAGE signaling in ALS. *Antioxid Redox Signal*. 2017 in press
207. Harashima A, Yamamoto Y. Perception of pathogenic bacteria by pattern recognition receptor RAGE in the frontline. *IMARS Highlights*. 12(2): 5-7, 2017
208. Higashida H, Furuhashi K, Yamauchi AM, Deguchi K, Harashima A, Munesue S, Lopatina O,

- Gerasimenko M, Salmina AB, Zhang JS, Kodama H, Kuroda H, Tsuji C, Suto S, Yamamoto H, Yamamoto Y. Intestinal transepithelial permeability of oxytocin into the blood is dependent on the receptor for advanced glycation end products in mice. *Sci Rep.* 7(1): 7883, 2017
209. Okamoto H, Takasawa S, Yamamoto Y. From insulin synthesis to secretion: alternative splicing of type 2 ryanodine receptor gene is essential for insulin secretion in pancreatic  $\beta$  cells. *Int J Biochem Cell Biol.* 91(PtB): 176–83, 2017.
210. El-Far A, Munesue S, Harashima A, Sato A, Shindo M, Nakajima S, Inada M, Tanaka M, Takeuchi A, Tsuchiya H, Yamamoto H, Shaheen HME, El-Sayed YS, Kawano S, Tanuma S, Yamamoto Y. In vitro anticancer effects of a RAGE inhibitor discovered using a structure-based drug design system. *Oncology Lett.* 15(4): 4627–34, 2017
211. Cherepanov SM, Akther S, Nishimura T, Shabalova AA, Mizuno A, Ichinose W, Satoshi Shuto S, Yamamoto Y, Yokoyama S, Higashida H. Effects of three lipidated oxytocin analogs on behavioral deficits in CD38 knockout mice. *Brain Sci.* 7(10): E132, 2017
212. Munesue S, Yamamoto Y. Targeting RAGE: a viable strategy for cancer prevention and treatment? *IMARS Highlights.* 12(6): 5–6, 2017
213. Iwamura M, Yamamoto Y, Kitayama Y, Higuchi K, Fujimura T, Hase T, Yamamoto H. Epidermal expression of receptor for advanced glycation end-products (RAGE) is related to inflammation and apoptosis in human skin. *Exp Dermatology.* 25(3): 235–7, 2016
214. Ota C, Ishizawa K, Yamada M, Tando Y, Mei H, Takahashi T, Yamamoto Y, Yamamoto H, Kubo H. The receptor for advanced glycation end-products is associated with apoptosis of alveolar epithelial cells in hyperoxia exposure in vitro and in vivo. *Respiratory Invest.* 54(2): 98–108, 2016
215. Yamaguchi T, Fushida S, Yamamoto Y, Tsukada T, Kinoshita J, Oyama K, Miyashita T, Tajima H, Ninomiya I, Munesue S, Harashima A, Harada S, Yamamoto H, Ohta T. Tumor-associated macrophages of the M2 phenotype contribute to progression in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer.* 19(4): 1052–65, 2016
216. Ichiki T, Koga T, Okuno T, Saeki K, Yamamoto Y, Yamamoto H, Sakaguchi M, Yokomizo T. Modulation of leukotriene B4 receptor 1 signaling by receptor for advanced glycation end products, RAGE. *FASEB J.* 30(5): 1811–22, 2016
217. Lee BC, Kim MS, Pae M, Yamamoto Y, Eberlé D, Shimada T, Kamei N, Park HS, Sasorith S, Woo JR, You J, Mosher W, Brady HJM, Shoelson SE, Lee J. Adipose natural killer cells regulate adipose tissue macrophages to promote insulin resistance in obesity. *Cell Metab.* 23(4): 685–98, 2016
218. Zhong J, Amina S, Liang M, Akther S, Yuhi T, Nishimura T, Higashida C, Tsuji T, Liu HX, Hashii M, Furuhashi K, Yokoyama S, Yamamoto Y, Okamoto H, Zhao YJ, Lee HC, Tominaga M, Olopatina O, Higashida H. Cyclic ADP-ribose and heat regulate oxytocin release via CD38 and TRPM2 in the hypothalamus during social or psychological stress in mice. *Front Neurosci.* 10: 304, 2016
219. Ta H, Le T, Ishii H, Takarada-Iemata M, Hattori, T, Hashida K, Yamamoto Y, Mori K, Takahashi R, Kitao Y, Hori O. Atf6  $\alpha$  deficiency suppresses microglial activation and ameliorates pathology of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurochem.* 139(6): 1124–37, 2016
220. Takeuchi A, Yamamoto N, Shirai T, Hayashi K, Miwa S, Munesue S, Yamamoto Y, Tsuchiya H. Clinical relevance of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  expression in myxoid liposarcoma. *BMC Cancer.* 16: 442, 2016
221. Miyashita M, Watanabe T, Ichikawa T, Toriumi K, Horiuchi Y, Kobori A, Kushima I, Hashimoto R, Fukumoto M, Koike S, Ujike H, Arinami T, Tatebayashi Y, Kasai K, Takeda M,

- Ozaki N, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Washizuka S, Yamamoto H, Miyata T, Itokawa M, Yamamoto Y, Arai M. The regulation of soluble receptor for AGEs contributes to carbonyl stress in schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun.* 479(3): 447–52, 2016
222. Abouzed TK, Munesue S, Harashima A, Masuo Y, Kato Y, Kahilo K, Yamamoto H, Yamamoto Y. Preventive effect of salicylate and pyridoxamine on diabetic nephropathy. *J Diabetes Res.* 2016: 1786789, 2016
223. Chandna AR, Baskaran MN, Chang C, Pennington PR, Mousseau DD, Yamamoto Y, Campanucci VA. RAGE mediates the interactivation of nAChRs in sympathetic neurons during high glucose conditions. *Eur J Neurosci.* 41(3):341–51, 2015
224. Inaba Y, Furutani T, Kimura K, Watanabe H, Haga S, Kido Y, Yamamoto Y, Harada K, Kaneko S, Oyadomari S, Ozaki M, Kasuga M, Inoue H. Gadd34 regulates liver regeneration in hepatic steatosis. *Hepatology.* 61(4): 1343–56 2015
225. Waseda K, Miyahara N, Taniguchi A, Kurimoto E, Ikeda G, Koga H, Fujii U, Yamamoto Y, Gelfand EW, Yamamoto H, Tanimoto M, Kanehiro A. Emphysema requires the receptor for advanced glycation end products triggering on structural cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 52(4): 482–91, 2015
226. Taniguchi A, Miyahara N, Waseda K, Kurimoto E, Fuji U, Tanimoto Y, Kataoka M, Yamamoto, Y, Gelfand E, Tanimoto M, Yamamoto H, Kanehiro A. Contrasting Roles for the Receptor for Advanced Glycation End-Products on Structural Cells in Allergic Airway Inflammation versus Airway Hyperresponsiveness. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 309(8): L789–800, 2015

◆著書

1. 安波洋一 糖尿病学 7章 糖尿病の予防と根治 3 膵臓移植・膵島移植 西村書店 pp601-606, 2015
2. 柳瀬敏彦、明比祐子、野見山 崇 コンサルタント35 先天性副腎過形成の成人期にはどのように取り扱いますか？ 内分泌・脂質・尿酸コンサルタント（金芳堂）  
深川雅史 編集 印刷中 2017
3. 柳瀬敏彦、明比祐子 副腎疾患：先天性副腎過形成 内分泌高血圧診療マニュアル 改訂第2版 2017 印刷中
4. 柳瀬敏彦 診療ガイドライン up-to-date (監修：門脇 孝、小室一成、宮地良樹) メディカルレビュー社 7. 副腎偶発腫瘍 pp392-396, 2016
5. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 25. 不妊を主訴に来院した 27 歳男性 New 専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ 日本医事新報社（編集：肥塚 直美） pp220-226, 2016
6. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 ステロイド療法のエッセンス（編集：川合真一）じほう 第5章 患者背景別のステロイドの選び方、使い方 4. 手術時 pp2425-2429, 2016
7. 柳瀬敏彦 小児の症候群 Addison 症候群 小児科診療（増刊号）79：236, 2016
8. 野見山 崇、柳瀬敏彦 糖尿病最新の治療 2016-2018（編集：羽田勝計、門脇 孝、荒木栄一）南江堂 XIV 二次性糖尿病 ステロイド糖尿病 pp275-277, 2016
9. 柳瀬敏彦 副腎偶発腫 日常診療に活かす診療ガイドライン Up-To-Date(メディカルレビュー社)（編集：門脇 孝、小室一成、宮地良樹） pp302-396, 2016
10. 柳瀬敏彦 クッシング症候群 今日の治療指針 2017 年版(総編集福井次矢、高木誠、小室一成) 医学書院 pp760-761, 2016
11. 柳瀬敏彦 選択的アンドロゲン受容体モジュレーター(SARM)サルコペニア治療への応用 サルコペニアとフレイル(医療職間連携による多角的アプローチ) 編集：荒井秀典(医葉ジャーナル社) pp104-111, 2015
12. 柳瀬敏彦、後藤 穰 特発性 Addison 病、自己免疫性副腎炎 免疫症候群(第2版)(編集：宮坂信之) 日本臨床(別冊) pp228-232, 2015
13. 柳瀬敏彦 III. F. 3. 副腎ホルモン 日本抗加齢医学会認定テキスト「第3版アンチエイジングの基礎と臨床」(加藤文明社) pp108-109, 2015
14. 柳瀬敏彦 クッシング症候群 今日の診断指針(第7版)(医学書院) pp1211-1213, 2015
15. 柳瀬敏彦 褐色細胞腫 今日の治療指針 2015 年版(医学書院) pp750-751, 2015
16. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 副腎酵素欠損症 難病辞典 (編集責任者：尾崎承一:学研) pp423-428, 2015
17. 柳瀬敏彦 (委員長) ほか 16 名 副腎クリーゼを含む副腎皮質機能低下症の診断と治療に関する指針(編集：柳瀬敏彦、日本内分泌学会刊行) 日本内分泌学会雑誌 91 (Suppl.): 1-78, 2015
18. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病診療でみんなが困る疑問を集めました。血糖コントロールがうまくいくコツ】(第2章)外来診療の疑問 ステロイド糖尿病への対処は? レジデントノート 16: 3197-3203, 2015
19. 野見山崇、柳瀬敏彦 糖尿病の臨床検査-その限界に挑戦する 糖尿病の臨床検査(各論) 糖尿病の診断・経過観察のための検査 臨床検査から推し測る糖の流れの全体像へヘモグロビン A1c・グリコアルブミン・1,5-AG. 糖尿病診療マスター 13: 209-13, 2015
20. 田邊真紀人、柳瀬敏彦 Case 25. 不妊を主訴に来院した 27 歳男性. New 専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ内分泌疾患(第3版) 220-6, 2015 肥塚直美 編, 日本医事新報社
21. 大慈弥裕之、高木誠司 第4章 腫瘍 自家組織移植による乳房再建 専門医取得に必

- 要な形成外科手技 36—口頭試問への対策—（下） 36: 228-39, 2015
22. 高木誠司（監修&分担執筆）急性創傷/瘢痕ケロイド 第Ⅱ編 感染創 形成外科診療ガイドライン2 2015
  23. 高木誠司 眼瞼の外傷 眼瞼・眼窩・涙道の外科 — スグに役立つ基本知識～高度技術 pp159-169, 2017
  24. 高木誠司、大慈弥裕之 創傷外科治療における基本的考え 1.院内感染対策 外科系医師が知っておくべき創傷治癒のすべて 57-60, 2017
  25. Takagi S, Ohjimi H. Sternum Elevators for Minimal Access Pectus Excavatum Repair. Chest Wall Deformities. pp467-74, 2017
  26. 野見山崇 チャートで分かる糖尿病治療薬処方へのトリセツ—未来を護るベストチョイス！ 2017
  27. 岩本隆宏 薬物標的となるイオントランスポーター 図解薬理学（編集：鍋島俊隆・井上和秀） pp48-54, 2015.
  28. 安西尚彦、岩本隆宏 創薬応用を目指すチャンネル・トランスポーター研究最前線 臨床薬理 46(1): 29, 2015
  29. 岩本隆宏 Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交換体と循環器系疾患：創薬標的としての可能性 臨床薬理 46(1): 30-2, 2015
  30. 喜多紗斗美、岩本隆宏 利尿薬, イラストレイテッド薬理学（柳澤輝行, 他編）丸善（東京） pp265-280, 2016

◆学会発表

安波 洋一

〈国内学会〉

1. Ibrahim Fathi、猪村武弘、猪村 梢、五十嵐康宏、稲垣明子、柏山 浩、末田輝子、笠井憲雪、三好一郎、小野文子、安波洋一、後藤昌史 ESTABLISHMENT OF A SIMPLE AND EFFECTIVE NON-HUMAN PRIMATE DIABETIC MODEL COMBINING PARTIAL PANCREATECTOMY AND LOW-DOSE STREPTOZOTOCIN INJECTION 第45回日本膵・膵島移植研究会 3/2-3, 2018 仙台
2. 齋藤純健、猪村武弘、後藤めぐみ、稲垣明子、Ibrahim Fathi、小笠原弘之、宮城重人、亀井 尚、海野倫明、里見 進、安波洋一、後藤昌史 膵島を用いた細胞生着促進因子を同定する有用な解析モデルの構築 第45回日本膵・膵島移植研究会 3/2-3, 2018 仙台
3. 中房祐樹、相原健吾、新田直柔、奥山 希、中岡裕輔、濱口百合子、大津由莉、勝田仁、中村雅史、後藤昌史、岩田博夫、安波洋一 新しい膵島皮下移植法による免疫抑制剤を必要としないマウス膵島同種移植拒絶反応制御法 第45回日本膵・膵島移植研究会 3/2-3, 2018 仙台
4. 安波洋一、棟居聖一、中房祐樹、新田直柔、濱口百合子、山本靖彦、中村雅史、後藤昌史、小野順子、谷口 克 臨床膵島移植の課題を克服する新しい膵島皮下移植法 第44回日本膵・膵島移植研究会 3/10-11, 2017 京都
5. 猪村武弘、猪村 梢、五十嵐康宏、稲垣明子、柏山 浩、末田輝子、笠井憲雪、三好一郎、小野文子、安波洋一、後藤昌史 簡便かつ効果的なサル糖尿病モデル構築法の検討 第44回日本膵・膵島移植研究会 3/10-11, 2017 京都
6. 安波洋一 特別講演 糖尿病と再生医療 第16回日本先進糖尿病治療研究会 11/26, 2016 横浜
7. 安波洋一、棟居聖一、新田直柔、濱口百合子、山本靖彦 (ワークショップ) ドナー膵島の RAGE を標的にした移植膵島障害の新規制御法 第43回日本膵・膵島移植研究会 3/4-5, 2016 広島

〈国際学会〉

8. Nakafusa Y, Nitta N, Nakamura M, Yasunami Y. Acceptance of Murine Islet Allografts without Immunosuppression in the Inguinal Subcutaneous White Adipose Tissue pretreated with bFGF. American Diabetes Association 78th Scientific Sessions. 22-26 June, 2018 Orlando, FL, USA
9. Yasunami Y, Seiichi M, Naoyoshi N, Yasuhiko Y. Early loss of transplanted islets is prevented by targeting receptor for advanced glycation end products of donor islets in mice. IPITA - IXA - CTS 2015 Joint Congress November 15-19, 2015 Melbourne, Australia
10. Yasunami Y, Munesue S, Yamamoto Y, Yamamoto H. RAGE of donor islets is a novel target to improve the efficiency of islet transplantation. 12th International symposium on the Maillard Reaction. 9/1-4, 2015 Tokyo, Japan

柳瀬 敏彦

〈国内学会〉

11. 柳瀬敏彦 特別講演 内分泌・代謝学の視点からみた前立腺癌治療の現在、未来 第11回水戸・日立 UROLOGY UPDATE 3/29, 2018 水戸
12. 柳瀬敏彦 糖尿病性腎症：早期治療介入の重要性と薬剤選択 明日からの実践に役立つ糖尿病セミナー 3/13, 2018 福岡

13. 柳瀬敏彦 ステロイド糖尿病の病態と治療について 第15回九州びまん性肺疾患カンファレンス 3/3, 2018 福岡
14. 柳瀬敏彦 特別講演 内分泌疾患、疑わなければ始まらないってよ 第4回堺内分泌セミナー 2/10, 2018 大阪
15. 柳瀬敏彦 講演II 内分泌疾患：疑わなければ始まらないってよ 糖尿病 内分泌疾患地域連携セミナー 1/26, 2018 横浜
16. 柳瀬敏彦 特別講演2 メタボリックシンドロームとアンチエイジング 人吉球磨学術講演会 1/19, 2018 人吉
17. 柳瀬敏彦 特別講演 ステロイド糖尿病の病態と加療 浜松糖尿病合併症カンファレンス 12/15, 2017 浜松
18. 柳瀬敏彦 糖尿病合併症進展を考慮した血糖管理のための薬物選択と患者教育 第72回糖尿病領域WEB講演会 12/7, 2017 福岡
19. 柳瀬敏彦 男の尿酸ってどうよ 久留米 糖尿病と尿酸を考える会 11/28, 2017 久留米
20. 柳瀬敏彦 高齢者糖尿病の特徴と薬剤選択について 福岡西糖尿病治療セミナー 11/14, 2017 福岡
21. 柳瀬敏彦 講演1 内分泌疾患、疑わなければ始まらないってよ 九州内分泌疾患・糖尿病フォーラム 11/12, 2017 福岡
22. 柳瀬敏彦 特別講演 高血圧診療の落とし穴“原発性アルドステロン症” 第76回遠賀・八幡勉強会 11/9, 2017 遠賀
23. 柳瀬敏彦 特別講演 内分泌・代謝学の視点からみた前立腺癌治療の現在、未来 七隈前立腺癌講演会 10/26, 2017 福岡
24. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病診療における早期治療介入と柔軟思考の重要性：食事、癌、高血圧、フレイル 久留米内分泌代謝セミナー 10/16, 2017 久留米
25. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病診療における早期治療介入と柔軟思考の重要性：食事、癌、高血圧、フレイル 糖尿病領域疾患啓発学術講演会 9/28, 2017 大分
26. 柳瀬敏彦 session 2 講演 高齢者糖尿病診療における幾つかの問題：癌、薬剤、フレイル Diabetes Symposium ～糖尿病治療と地域連携を目指して～ 9/6, 2017 福岡
27. 柳瀬敏彦 特別講演 当科メタボ・糖尿病研究から示唆されること：食事、薬剤、癌、高血圧、フレイル 県北E-Quality Meeting 6/28, 2017 佐世保
28. 柳瀬敏彦 特別講演 当科メタボ・糖尿病臨床研究から示唆されること：食事、薬剤、高血圧、フレイル 第5回高齢者糖尿病研究会 6/8, 2017
29. 柳瀬敏彦 糖尿病診療における最新の話題：自験成績から 第26回八幡・遠賀・中間実地医家糖尿病診療セミナー 6/8, 2017 中間
30. 柳瀬敏彦 特別講演 内分泌・代謝学の視点からみた前立腺癌治療の現在、未来 第6回Prostate Cancer Innovation Symposium 6/1, 2017 前橋
31. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病診療のピットフォール：内分泌からみた視点 糖尿病アカデミーin Yokohama 5/30, 2017 横浜
32. 柳瀬敏彦 特別講演 GH関連疾患における当科臨床並びに基礎研究から示唆されること 第6回北九州間脳下垂体学術講演会 5/27, 2017 北九州
33. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病に潜むステロイド関連疾患 Sapporo EM Expert Seminar 5/25, 2017 札幌
34. 柳瀬敏彦 総括 知らないと損をする！ 新専門医制度について Endocrinology and Diabetes Mellitus Spring Meeting 2017 4/24, 2017 福岡
35. 柳瀬敏彦 特別講演 当科メタボ・糖尿病研究から示唆されること：食事、薬剤、癌、高血圧、フレイル 第38回岡山生活習慣病懇話会 4/4, 2017 岡山
36. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病（メタボ、糖尿病、高血圧）に潜むステロイド関

- 連疾患 第2回名古屋糖尿病・内分泌研究会 3/10, 2017 名古屋
37. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病診療における食事、薬剤のよもやま話 筑紫野・地域医療連携フォーラム 3/7, 2017
  38. 柳瀬敏彦 特別講演 当科糖尿病メタボ・糖尿病研究から示唆されること：食事、薬剤、癌、高血圧、フレイル 第50回神奈川内分泌・代謝セミナー 3/4, 2017 横浜
  39. 柳瀬敏彦 教育講演 糖尿病診療に必要な知識 2L-1-5 ステロイド糖尿病 第51回糖尿病学の進歩 2/17-18, 2017 京都
  40. 柳瀬敏彦 糖尿病診療におけるよもやま話：食事・薬剤・高血圧・フレイル Diabetes Symposium in 東濃 2/16, 2017 多治見、岐阜
  41. 柳瀬敏彦 特別講演 当科糖尿病研究から示唆されること：食事、薬剤、高血圧、癌、フレイル 第24回 響 内科眼科糖尿病診療連携の会 2/9, 2017 八幡
  42. 柳瀬敏彦 セミナー1 メタボ・糖尿病診療における食事と薬剤のよもやま話 九州薬剤師セミナー 1/31, 2017 福岡
  43. 柳瀬敏彦 教育講演 内分泌関連疾患 平成28年度福岡県難病指定医研修会 12/25, 2016 北九州
  44. 柳瀬敏彦 特別講演 当科メタボ・糖尿病研究から示唆されること：食事、薬剤、癌、高血圧、フレイル Diabetes Forum in Wakayama 12/15, 2016 和歌山
  45. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病（メタボ、糖尿病、高血圧）に潜むステロイド関連疾患 第24回日本ステロイドホルモン学会学術集会 12/3, 2016 大分
  46. 柳瀬敏彦 講演 2型糖尿病治療の現状と展望 -高齢者医療を見据えて- 離島における高齢者医療の問題を考える会 11/22, 2016 対馬
  47. 柳瀬敏彦 メタボ型糖尿病診療における食事と薬剤のよもやま話 DM seminar in Shidahaibara 11/16, 2016 藤枝
  48. 柳瀬敏彦 特別講演II 心・内分泌・糖尿病関連：フィブラート、アンドロゲンの場合 第11回 Fukuoka Fibrate Forum 11/7, 2016 福岡
  49. 柳瀬敏彦 教育講演 今さら聞けない、副腎ステロイドのABC 日本抗加齢医学会第12回キレーション治療セミナー 11/6, 2016 東京
  50. 柳瀬敏彦 特別講演 男性復権！テストステロンのヒ・ミ・ツ 広島県内分泌講演会 11/2, 2016
  51. 柳瀬敏彦 教育講演 ホルモン最前線 日本抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会主催研修講習会（応用・実践編） 10/23, 2016 福岡
  52. 柳瀬敏彦 糖尿病の予防 福岡大学博多駅クリニックプレゼンツ すこやかフェスタ 健康寿命講演会&セミナー 主催・県民幸福度 No1 すこやかフェスタ実行委員会 10/10, 2016 福岡
  53. 柳瀬敏彦 特別講演 内分泌代謝学の視点からみた前立腺癌治療の現在、未来 Urology Forum 10/15, 2016 久留米
  54. 柳瀬敏彦 メタボ型糖尿病診療における食事と薬剤のよもやま話 Diabetes Symposium : 糖尿病治療と地域連携を目指して 9/18, 2016 福岡
  55. 柳瀬敏彦 教育講演I 副腎疾患の診断と治療に関する最近の話題 第16回日本内分泌学会九州支部学術集会 9/10, 2016 鹿児島
  56. 柳瀬敏彦 特別講演 症例に学ぶ糖尿病診療におけるピットフォール Diabetes Expert Seminar 7/15, 2016 東京
  57. 柳瀬敏彦 特別講演2 女性におけるアンドロゲンとは？ 第16回日本 Men's Health 医学会 第7回テストステロン研究会 7/8-10, 2016 札幌
  58. 柳瀬敏彦 教育講演 内分泌・代謝学の視点からみたステロイドホルモン療法：前立腺癌治療におけるピットフォール 第35回日本アンドロロジー学会 6/24-25, 2016 前橋

59. 柳瀬敏彦 教育講演 17 二次性糖尿病（内分泌疾患に伴う糖尿病など） 第 59 回日本糖尿病学会 5/19-21, 2016 京都
60. 柳瀬敏彦 教育講演 16 内分泌性肥満の成因と病態 第 89 回日本内分泌学会学術総会 4/21-23, 2016 京都
61. 柳瀬敏彦 教育講演 3 副腎領域の進歩 第 113 回日本内科学会講演会 4/15-17, 2016 東京
62. 柳瀬敏彦 特別講演 2 型糖尿病治療の現状と展望 福岡地区勤務薬剤師会 4/13, 2016
63. 柳瀬敏彦 特別講演 2 型糖尿病診療における幾つかの話題：薬剤、癌、高血圧 三区合同内科医会学術講演会 3/15, 2016 福岡
64. 柳瀬敏彦 平成 28 年度医学教育カリキュラムの説明 第 4 回医学教育ワークショップ 3/4, 2016 福岡
65. 柳瀬敏彦 特別講演 甲状腺診療が向上せん、と思われてる方のための甲状腺診療 ABC 第 69 回遠賀・八幡勉強会 2/16, 2016 八幡
66. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病に潜むステロイド関連疾患：まずは疑うことから 第 10 回滋賀内分泌クリニカルカンファレンス 2/13, 2016 大津
67. 柳瀬敏彦 特別講演 メタボ・糖尿病診療におけるウソ？ホント？ 出雲糖尿病治療学術講演会 2016 1/22, 2016 島根
68. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病に関する幾つかの話題：食事、癌、高血圧 第 11 回代謝・内分泌を勉強する会 1/21, 2016 福岡
69. 柳瀬敏彦 特別講演 一石三鳥が貴方を救う：食事、運動、薬剤 Seminar of the Women Doctors 12/10, 2015 福岡
70. 柳瀬敏彦 メタボ・糖尿病診療における幾つかの話題：食事、癌、ピットフォール NIGATA DIABETES FORUM 11/7, 2015 新潟
71. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病治療戦略としてのステロイド学 第 11 回みんなで糖尿病を考える会 10/22, 2015 福岡
72. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病治療戦略としてのステロイドに関する 2, 3 の話題 第 39 回南大阪内分泌代謝疾患研究会 10/17, 2015 福岡
73. 柳瀬敏彦 特別講演 メタボ・糖尿病診療における幾つかの話題：食事、癌 第 2 回西部地区糖尿病診療フォーラム 10/15, 2015 福岡
74. 柳瀬敏彦 特別講演 メタボ・糖尿病診療における幾つかの話題：食事、癌 早鞆ナイトミーティング 10/9, 2015 山口
75. 柳瀬敏彦 特別講演 当院における院内・院外医療連携の現状と私見 福岡徳洲会病院医療連携登録医制度連絡協議会 9/18, 2015
76. 柳瀬敏彦 特別講演 生活習慣病に潜む副腎疾患：まずは疑うことから 東葛北部内分泌代謝疾患懇話会 9/10, 2015
77. 柳瀬敏彦 特別講演 II 糖尿病診療のワナ：内分泌の知識があなたを救う 第 4 回 KOBE 内分泌・代謝スキルアップセミナー 8/22, 2015 神戸
78. 柳瀬敏彦 特別講演 副腎疾患に関する幾つかの話題 第 4 回内分泌代謝 Meet The Professor 7/30, 2015 東京
79. 柳瀬敏彦 招聘講演 コルチゾール、アンドロゲンの合成キーエンザイムとしての P450c17 第 11 回東京前立腺会議 7/2, 2015 東京
80. 柳瀬敏彦 特別講演 まずは疑うことから：内分泌性糖尿病の病態と加療 第 23 回川西糖尿病代謝疾患研究会 6/6, 2015
81. 柳瀬敏彦 特別講演 メタボ・糖尿病診療のウソ？ホント？ 中部地区 SGLT2 阻害薬適正使用検討会 6/4, 2015 沖縄
82. 柳瀬敏彦 特別講演 メタボ・糖尿病診療におけるウソ？？ホント？？ 三区合同内科医会学術講演会 5/15, 2015 福岡

83. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病診療のワナ：内分泌の知識があなたを救う 下関内分泌疾患研究会 4/15, 2015
84. 柳瀬敏彦 特別講演 糖尿病診療におけるピットフォール 第2回糖尿病治療を語る会 4/8, 2015 倉敷
85. 柳瀬敏彦 教育講演 日本抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会主催 ホルモンとアンチエイジング：副腎ホルモンを中心に 1/17, 2016 福岡
86. 柳瀬敏彦 教育講演 教育講演2 メタボ・糖尿病診療における食事療法の科学と機能性食品としての DHEA 第13回日本機能性食品様学会 12/13, 2015 福岡
87. 柳瀬敏彦 教育講演 専門医更新のための指定講演I 糖尿病診療のピットフォール：二次性糖尿病の病態 第53回日本糖尿病学会九州地方会 11/27, 2015 福岡
88. 柳瀬敏彦 教育講演 合併症を考慮した糖尿病薬物療法のポイント 第12回日本フットケア学会久留米セミナー 10/24, 2015 久留米
89. 柳瀬敏彦 教育講演 中高年男女の健康医学「DHEAのAntiagingの意義」日本抗加齢医学会専門医・指導士単位認定講習会 第11回日本抗加齢医学会北海道研究会 9/23, 2015 札幌
90. 柳瀬敏彦 教育講演 メタボ・糖尿病診療におけるいくつかの話題：食事療法、癌 第15回日本内分泌学会九州支部学術集会 8/29, 2015 大分
91. 柳瀬敏彦 専門教育プログラム2 実践！！アンチエイジング医療におけるホルモン療法 DHEA 第15回日本抗加齢医学総会 5/29-31, 2015

高木 誠司

〈国内学会〉

92. 高木誠司 左李肋部に限局した胸郭陥凹変形の1例 第17回Nuss法漏斗胸手術手技研究会 11/24, 2017 高松
93. 高木誠司 「頭のかたち外来」開始に伴う不随効果 第13回Craniosynostosis研究会 7/8, 2017 石川
94. 高木誠司 Free TRAMによる乳房再建～腹部正中のConnecting vesselsに関して～ 第60回日本形成外科学会総会・学術集会 4/13, 2017 大阪
95. 高木誠司 「頭のかたち」外来を始めてみて 第103回九州沖縄形成外科学会学術集会 3/11, 2017 福岡
96. 高木誠司 ヘマンジオルの上市によってもたらされる乳児血管腫治療の新展開（特別講演） 第149回県央皮膚科研究会 9/13, 2016 諫早
97. 高木誠司 Nuss法施行後の疼痛遷延～遷延する要因は？ 第59回日本形成外科学会総会学術集会 4/13, 2016 福岡
98. 高木誠司 小児形成外科～患者とその家族の笑顔のために（特別講演） 第19回九州外来小児科学研究会 12/6, 2015 福岡
99. 高木誠司 眼窩底の視野展開～眼窩下動脈の眼窩枝について～ 第33回日本頭蓋顔面外科学会学術集会 11/13, 2015. 宝塚
100. 高木誠司 形成・整形の一史実談義（講演） 第53回七隈ハンドカンファレンス 7/24, 2015 福岡
101. 高木誠司 体位による乳房形態の変化の検討とその臨床応用 第23回日本乳癌学会学術集会 7/2-4, 2015. 東京
102. 高木誠司 小児形成外科～患児とその家族のスマイル回復とQOL向上を求めて～（特別講演） 第446回福岡地区小児科医会 5/2, 2015 福岡
103. 高木誠司 乳房再建（自家組織）でのわれわれの治療戦略（シンポジウム） 第58回日本形成外科学会総会・学術集会 4/8, 2015 京都

〈国際学会〉

104. Takagi S. Recent Advances in Oral and Maxillofacial Surgery ~To Minimalize Flap Mortality and Donor Site Morbidity (シンポジウム) 第40回国際外科学会世界総会 10/25, 2016 Kyoto, Japan
105. Takagi S. Aesthetic breast reconstruction with breast reduction concept (シンポジウム) 第59回日本形成外科学会総会学術集会における ISAPS-JSPRS Joint international symposium 4/13, 2016 Fukuoka, Japan
106. Takagi S. Breast reduction surgery in aesthetic breast reconstruction. The 7th Fukuoka-Busan Overseas Society of Plastic Surgeons 10/3, 2015 釜山
107. Takagi S. A case report: Cheiloplasty for the median cleft lip deformity in holoprosencephaly. The 16th Congress of International Society of Craniofacial Surgery (ISCFS) 9/17, 2015 Tokyo, Japan

### 野見山 崇

〈国内学会〉

108. 野見山崇 血管を護るための糖尿病治療戦略 第54回日本糖尿病学会九州地方会 10/14-15, 2016 鹿児島
109. 野見山崇 理に適った GLP-1 受容体作動薬のポジショニング~beyond the BG control~ 第90回日本糖尿病学会中部地方会 10/2, 2016 名古屋
110. 野見山崇 日本人2型糖尿病患者における SGLT2 阻害薬イプラグリフロジンの有効性と安全性の検討 第89回日本内分泌学会学術総会 4/21-23, 2016 京都
111. 野見山崇 GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 とメトホルミンは相乗効果で前立腺癌を抑制する 第65回日本体質医学会 7/4-5, 2015 札幌
112. 野見山崇 日本人2型糖尿病患者における SGLT2 阻害薬の有効性と安全性の検討 第58回日本糖尿病学会年次学術集会 5/21-24, 2015 下関
113. 野見山崇 GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 とメトホルミンは相乗効果で前立腺癌を抑制する 第88回日本内分泌学会学術総会 4/23-25, 2015 東京

〈国際学会〉

114. Nomiyama T. Efficacy and safety of SGLT2 inhibitor ipragliflozin in Japanese patients with type 2 diabetes. 11th IDF-WPR Congress 2016 & 8th AASD Scientific Meeting 10/27-30, 2016 Taipei, Taiwan

### 岩本 隆宏、喜多 紗斗美

〈国内学会〉

115. 柴田志保、田頭秀章、鈴木沙理、喜多紗斗美、山浦健、岩本隆宏 複合性局所疼痛症候群モデルマウスの構築と治療法確立への応用 第70回日本薬理学会西南部会 11/18, 2017 鹿児島
116. 田頭秀章、鈴木沙理、喜多紗斗美、岩本隆宏 臓器特異的遺伝子改変マウスを用いた心血管 Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交換体の機能解析 第70回日本薬理学会西南部会 11/18, 2017 鹿児島
117. 田頭秀章、永田旭、喜多紗斗美、阿部弘太郎、岩崎昭憲、岩本隆宏 NCX1 遺伝子改変マウスを用いた肺高血圧発症機序の解析 第12回トランスポーター研究会年会 7/8-9, 2017 仙台
118. Tagashira H, Kita S, Arai Y, Iwamoto T. Transgenic mice overexpressing dominant negative TRPM7 mutant are useful tools for studying magnesium disorders. 第90回日本薬理学会年会 3/15-17, 2017 長崎
119. 永田旭、喜多紗斗美、田頭秀章、阿部弘太郎、岩崎昭憲、岩本隆宏 肺高血圧発症

- における 1 型  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送体 (NCX1) の役割 第 69 回日本薬理学会西南部会  
11/26, 2016 松山
120. 田頭秀章、喜多紗斗美、奥田裕子、岩本隆宏 新規マグネシウム代謝異常症モデル  
マウスの開発とその病態解析 第 69 回日本薬理学会西南部会 11/26, 2016 松山
121. 喜多紗斗美、田頭秀章、岩本隆宏 遺伝子改変マウスを用いたミトコンドリア  
 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換体の心血管機能解析 第 68 回日本薬理学会西南部会 11/21, 2015  
下関
122. 田頭秀章、喜多紗斗美、岩本隆宏  $\text{Mg}^{2+}$  輸送体 SLC41 の腎臓・血管機能調節におけ  
る役割 第 68 回日本薬理学会西南部会 11/21, 2015 下関
123. 田頭秀章、喜多紗斗美、後藤雄輔、岩本隆宏  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換体機能抑制の腎機能お  
よび  $\text{Ca}^{2+}$  排泄に及ぼす影響について 第 34 回臨床薬理阿蘇九重カンファレンス  
10/3, 2015 福岡
124. Moriguchi S, Izumi H, Kita S, Sakagami H, Iwamoto T, Fukunaga K. Abnormal fear  
memory via enhancement of CaM kinase II and IV activities in  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger type-  
1 null mice. 第 45 回日本神経精神薬理学会 9/24-26, 2015 東京
125. Moriguchi S, Izumi H, Kita S, Sakagami H, Iwamoto T, Fukunaga K. Dysregulation of fear  
memory and CaM kinase II activity in NCX1 deficit mice. 第 58 回日本神経化学会  
9/11-13, 2015 埼玉
126. 谷岡広大、東泰孝、西山和宏、喜多紗斗美、中島秀満、岩本隆宏、竹内正吉 マウ  
ス下痢モデルを用いた消化管運動における  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger の役割解明 第 158  
回日本獣医学会学術集会 9/7-9, 2015 青森
127. 鈴木翔、東泰孝、東直毅、喜多紗斗美、中島秀満、岩本隆宏、竹内正吉 TRPC3 お  
よび TRPC6 チャネルを介した回腸輪走筋収縮機能の制御 第 158 回日本獣医学会学  
術集会 9/7-9, 2015 青森
128. 谷岡広大、東泰孝、喜多紗斗美、中島秀満、岩本隆宏、竹内正吉 マウス下痢モデ  
ルにおける  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger 遺伝子欠損マウスを用いた解析 第 127 回日本薬理  
学会近畿部会 6/26, 2015 岐阜
129. 鈴木翔、東泰孝、喜多紗斗美、中島秀満、岩本隆宏、竹内正吉 マウス回腸輪走筋  
の収縮運動における TRPC3 チャネルの生理学的役割 第 127 回日本薬理学会近畿部  
会 6/26, 2015 岐阜
130. 喜多紗斗美、田頭秀章、岩本隆宏 NCLX ノックアウトマウスの心機能解析 第 10  
回トランスポーター研究会年会 6/20-21, 2015 東京  
(国際学会)
131. Tagashira H, Kita S, Gotoh Y, Iwamoto T. Physiological roles of NCX1 and NCX2 isoforms  
in urine formation and electrolyte excretion. Biophysical Society 61st Annual Meeting.  
2/11-15, 2017 New Orleans, USA
132. Nishiyama K, Azuma YT, Kita S, Nakajima H, Iwamoto T, Takeuchi T.  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$   
exchanger 2-heterozygote knockout mice display the altered motility in the ileum. United  
European Gastroenterology (UEG) Week 2015 10/24-28, 2015 Barcelona, Spain
133. Tagashira H, Kita S, Gotoh Y, Iwamoto T. Physiological role of  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger type-  
2 (NCX2) in the kidney. International Symposium on Chronic Inflammatory Diseases  
(ISCIDK2015) 10/16-17, 2015 Kumamoto, Japan

谷口 克

(国内学会)

134. 谷口克 NKT 細胞発見から臨床応用まで—新しい概念のがん治療—免疫サマースク  
ール 2017 in 湘南 8/1, 2018

135. 谷口克 新しい概念のがん免疫治療 広島大学大学院記念講演 7/1, 2017
136. 谷口克 NKT 細胞の発見とそれによる新しいがん治療 東京医科大学特別講義 6/13, 2017
137. 谷口克 NKT 細胞標的がん治療に関する Web セミナー 5/10, 2017
138. 谷口克 新しい概念のがん免疫治療 第 33 回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会 4/22, 2017
139. Dashtsoodol N. 谷口克 Identification of an alternative developmental pathway of V $\alpha$  14+ NKT cells from double-negative thymocytes. 第 45 回日本免疫学会学術集会 12/1, 2016
140. 谷口克 アレルギーは文明病か 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会 市民と医療者のための公開講座 (共催: 公益財団法人日本呼吸器財団)「こころとサイエンス」 4/19, 2015
141. 谷口克 NKT 細胞の発見から臨床応用まで 第 17 回免疫サマースクール 2015 7/22, 2015
142. 谷口克 新しい概念に基づく次世代がん免疫治療~NKT 細胞で健康寿命をのばす~ 第 17 回ガンマナイフ研究会 2/5, 2017
143. 谷口克 NKT 細胞:発見から 30 年-どんながんにも、誰にでも治療可能な新しい概念の免疫治療を確立- 第 6 回免疫疾患談話会 9/16, 2016
144. 谷口克 NKT 細胞発見から臨床応用まで-新しい概念に基づくがん免疫治療: NKT がん治療 免疫サマースクール 2016 in 北海道 7/12, 2016  
(国際学会)
145. Taniguchi M. NKT cell-targeted anti-cancer therapy. 2017 World Alliance Forum in San Francisco. 11/29-30, 2017 San Francisco, USA
146. Taniguchi M. Alternative pathway for the development of V $\alpha$ 14+ NKT cells directly from CD4-CD8- thymocytes that bypasses the CD4+CD8+ stage. CD1-MR1 2017. 11/3-7, 2017 Napa, USA
147. Taniguchi M. Alternative developmental pathway of a V $\alpha$  14+ NKT cell subset bypassing CD4+CD8+ double positive stage. CD1-MR1 meeting. 11/15-19, 2015 Mantra, Lorne, Australia

## 山本 靖彦

(国内学会)

148. 庄司拓仁、三好昌雄、角谷学、児山幸栄、森脇優司、山本靖彦、小山英則 マウス副腎の終末糖化産物受容体 (RAGE) はコルチコステロン分泌に関与する 第 90 回日本内分泌学会学術集会 4/21, 2017 京都
149. 山本靖彦 糖尿病血管障害の発症進展機構 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, シンポジウム 5/19, 2017
150. 山本靖彦 糖尿病合併症の発症進展機構-避けられない糖化反応とその細胞応答系, 第 6 回日本くすりと糖尿病学会学術集会 シンポジウム 9/17, 2017 東京
151. 棟居聖一、Tarek Kamal Abouzed、原島愛、山本博、山本靖彦 サリチル酸とピリドキサミンによる糖尿病腎症発症進展防止効果の検討 第 32 回日本糖尿病合併症学会 10/27, 2017 東京
152. 棟居聖一、原島愛、武内章彦、田中麻莉子、河野修平、佐藤聡、新藤実香、中島植吾、稲田愛、田沼靖一、山本靖彦 線維肉腫細胞の悪性化形質に及ぼす新規 RAGE 阻害薬の効果の検討 第 27 回日本メイラード反応学会年会 11/18, 2017 埼玉
153. 河野修平、宮澤英恵、棟居聖一、原島愛、Duong Thi Minh Thoa、Nontaphat Leerach、山本靖彦 RAGE 切断を誘導する薬剤スクリーニングと疾患の制御 第 27

- 回日本メイラード反応学会年会 11/18, 2017 埼玉
154. 山本靖彦 日本メイラード学会から戦略的活動の提案 第 27 回日本メイラード反応学会年会 11/18, 2017 埼玉
155. Yamamoto Y. NAD<sup>+</sup> biology in diabetes and its complications. NAD/CD38 A3 Meeting 2017 11/30, 2017 金沢
156. 山本靖彦 糖尿病合併症発症におけるグリケーション 第 50 回糖尿病学の進歩 招待講演 2/19-20, 2016 東京
157. 山本靖彦 糖尿病合併症発症におけるグリケーション 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 招待講演 5/19-21, 2016 京都
158. 山本靖彦 糖尿病合併症発症におけるグリケーション 第 50 回糖尿病学の進歩 2/19-20, 2016 東京
159. 武内章彦、山本憲男、林克洋、三輪真嗣、稲谷弘幸、青木裕、樋口貴史、阿部健作、棟居聖一、山本靖彦、土屋弘行 粘液型脂肪肉腫における PPAR $\gamma$  の発現と予後因子解析 第 53 回日本癌治療学会学術集会 10/29-31, 2015 京都
160. 清水有、山本靖彦、原島愛、棟居聖一、大石正博、林康彦、中田光俊、北尾康子、堀修、山本博 内在性分泌型 RAGE は脳虚血から神経細胞を保護する 第 30 回日本糖尿病合併症学会 11/27-28, 2015 名古屋  
(国際学会)
161. Yamamoto Y. Pattern-recognition receptor RAGE: foe or friend for life? 1st Ghent University - Kanazawa University Joint Seminar on “Cell death modalities: regulation, phagocytosis and relevance to diseases. Fiers-Schell-Van Montagu Seminar room. 2/6, 2018 Belgium
162. Kamei N, Shoelson A, Yamamoto Y., Lee J, Shoelson SE. Irradiation during bone marrow transplantation depletes Sca1<sup>+</sup> adipocyte progenitors to impair adipose tissue expansion in diet-induced and genetic models of obesity. ENDO 2016. 4/1-4, 2016 Boston, USA
163. Han D, Yamamoto Y., Munesue S, Harashima A, Yamamoto H. Insufficient leptin action induces RAGE expression and triggers pancreatic beta-cell failure in type 2 diabetes. 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015. 9/1-4, 2015 Tokyo, Japan
164. Yasunami Y., Yamamoto Y., Munesue S, Yamamoto H. RAGE of donor islets is a novel target to improve the efficiency of islet transplantation. 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015. 9/1-4, 2015 Tokyo, Japan
165. Shimizu Y, Munesue S, Yamamoto Y., Harashima A, Oishi M, Hayashi Y, Nakada M, Kitao Y, Hori O, Yamamoto H. Neuroprotective effects of endogenous secretory rage in ischemic cerebrovasculr diseases. 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015. 9/1-4, 2015 Tokyo, Japan

## 11. 記者発表



送付枚数 4枚 (本書含む)

報道関係 各位

本件の報道については、下記の解禁日時以降です。日時厳守をお願いします。  
日本時間 2018年3月11日(日) 午前2時

### 糖尿病の膵島移植治療に画期的移植法を開発

#### —従来法による課題を全て克服する新規皮下移植法—

福岡大学(山口政俊学長)と理化学研究所(松本 紘理事長)は、重症糖尿病の根治治療として行われている膵島細胞移植の画期的な新規皮下移植法を開発しました。福岡大学基盤研究機関・膵島研究所(安波洋一教授)と理化学研究所統合生命医科学研究センター免疫制御戦略研究グループ(谷口克グループディレクター)との共同研究による成果です。詳細は別紙をご覧ください。  
ついては、本研究成果に関する取材をお願いします。お問い合わせは下記のとおりお願いします。

記

- 3月9日(金)、10日(土)に取材(電話、来学)いただく場合  
下記「福岡大学 基盤研究機関膵島研究所長 安波」宛にお願いします。
- 3月12日(月)以降の取材(電話、来学)をご希望の場合  
下記「福岡大学 広報課長 久我」宛にお願いします。

【お問い合わせ先】

- 福岡大学基盤研究機関膵島研究所長 安波 洋一  
電話：092-801-1011 (内線3321) Fax：092-801-1019
- 理化学研究所 統合生命医科学研究センター 免疫制御戦略研究グループ  
グループディレクター 谷口 克  
電話：045-503-7001 Fax：045-503-7003
- 福岡大学企画部広報課長 久我秀一  
電話：092-871-6631 (内線4630) Fax：092-864-9415
- 理化学研究所 広報室 報道担当  
電話：048-467-9272 Fax：048-462-4715





本件の報道については、下記の解禁日時以降です。日時厳守をお願いします。  
日本時間2018年3月11日(日)午前2時



学校法人福岡大学、理化学研究所

## 糖尿病の膵島移植治療に画期的移植法を開発

### —従来法の課題を全て克服する新規皮下移植法—

#### 本研究成果のポイント

- 従来はレシピエントの肝臓内に膵島を移植しているが、今回皮下脂肪組織内に移植する新規膵島移植法を開発。
- 新規皮下移植法は肝臓内移植法の課題を全て克服する簡便で安全な画期的移植法である。
- 新規皮下移植法は糖尿病の再生医療である iPS 細胞、ES 細胞から創生されたインスリン産生細胞移植にも最適な移植法である。

福岡大学(山口政俊学長)と理化学研究所(松本 紘理事長)は、膵島(※1)細胞移植の画期的な新規皮下移植法を開発しました。福岡大学基盤研究機関膵島研究所(安波洋一教授)と理化学研究所統合生命医科学研究センター免疫制御細胞研究グループ(谷口克グループディレクター)との共同研究による成果です。

国内約890万人の糖尿病患者のうち、生涯インスリンを注射し続けなければならない重症患者は約10万人です。インスリン注射から解放される方法の一つとして注目されているのが、インスリンを作る膵島細胞(図1)を糖尿病患者の肝臓内に移植する膵島細胞移植です。しかし、肝臓内移植に特有な早期拒絶反応が障壁となり、治療効果を得るためには、数回の移植を行う必要があります。更には個々の膵島の大きさが小さく(直径平均0.2mm)、移植後は肝臓内に散在する為に超音波やCTでは見つからず拒絶反応の診断ができない、問題が起こった時に取っ出せない等の問題があります。

これまで研究グループは、膵島移植後の早期拒絶反応の機序、並びに制御法を明らかにしてきました。今回、研究グループは肝臓内膵島移植の上記課題を全て解決する新しい膵島皮下脂肪組織内移植法を開発しました。

従来、肝臓内に代わる膵島移植部位として皮下が注目され、研究されてきましたが、移植膵島の生着率が極めて低いことがわかっています。マウスの実験で通常の皮下に膵島を移植した場合、1匹の糖尿病を治すには5-6匹分の膵島が必要です。これは皮下は血管に乏しく、移植膵島の生存に必要な血流が不足し、大半の移植膵島が死滅してしまうことによります。今回、研究グループは皮下で血流が豊富な部位を探索しました。その結果、鼠蹊部皮下脂肪組織に着目するに至りました。鼠蹊部皮下脂肪組織は下肢の大動脈から分かれる下腹壁動脈という血管によって栄養され、血流が豊富です。実際に糖尿病マウスの皮下脂肪組織内に膵島を移植すると驚くべきことに1匹分の膵島移植で糖尿病が治癒しました。ちなみに肝臓内膵島移植では2匹分の膵島が必要です。又、移植膵島が径1-2mmの塊として生着し、それ故にCTで移植膵島の観察ならびに摘出が可能。また、拒絶反応の制御が容易であること、加えてこの方法で免疫不全マウスに移植したヒト膵島がマウスの糖尿病を直すことも判明しました。

このように、今回開発した膵島皮下脂肪組織内移植法は従来の肝臓内移植法の課題を全て克服する画期的な移植方法です。

重要な点はヒトも解剖学的に同じ皮下脂肪組織が存在することで、ヒトでも同様の効果が想定され、膵島移植による糖尿病治療に画期的進歩をもたらすと期待されます。

本研究成果は、国際移植学会誌『Transplantation』(3月11日付け電子版)に掲載されます。



## 1. 背景

国内の糖尿病患者数は約1000万人（平成26年度国民栄養・健康調査報告）とも言われています。このうち、重症糖尿病患者約10万人は、生涯にわたってインスリンを注射し続けなければなりません。このような重症糖尿病患者をインスリン注射から解放させる究極の治療法は、インスリンを作る膵島細胞（図1）を糖尿病患者の肝臓内に移植し、永久に生着させ、糖尿病を完治させるという方法です。世界では、2000年から2016年まで約1000例の膵島細胞移植が行われてきました。しかし、肝臓内移植膵島は免疫抑制剤を使用しても、移植後数時間で起こる早期拒絶反応によって、移植した膵島細胞が破壊されるため、1人から採取した膵島細胞全てを移植しても治療効果は得られず、2～3回の移植、すなわち2～3人から採取した膵島細胞を1人に移植しないと治療効果が得られない状況となっています。また個々の膵島は小さく（平均径0.2mm）、肝臓内に散在する移植膵島はCTやMRIでは見つからず拒絶反応の診断ができない、必要な時に摘出できないといった課題があります。これらは全て膵島の移植部位が肝臓であることに起因しており、肝臓以外の移植部位が見出されれば全て解決できる可能性があります。

## 2. 研究手法と成果

これまでに研究グループは、膵島の肝臓内移植直後におこる早期拒絶反応の機序と新規制御法を明らかにしてきました。今回発想を転換し、全ての膵島移植の課題が肝臓内移植に関連していることを鑑み、肝臓以外の移植部位、特に簡便で安全な皮下の新たな膵島移植方法の開発に着手しました。膵島皮下移植の研究は今までも行われてきましたが通常の皮下は血管に乏しく血流が少なく、移植後に膵島は酸素不足、栄養不足により大半が死滅してしまい、機能不全に陥ってしまいます。それで研究グループはマウスを用いて皮下で血流が豊富な部位を探索し、鼠蹊部皮下脂肪組織に着目しました。鼠蹊部皮下脂肪組織は白色脂肪と言われ、下肢の栄養血管である大腿動脈から分かれる下腹壁動脈が走り、血流が豊富です。実際の糖尿病マウスの鼠蹊部皮下脂肪組織内への膵島移植実験で驚くべきことに一匹分の膵島移植で高血糖が正常化し、糖尿病が完治しました。鼠蹊部皮下脂肪組織内移植膵島は塊（平均径1-2mm）を形成し下腹壁動脈と交通する新生血管により栄養され生着し、塊となった移植膵島はCTで造影され、容易に摘出もできることもわかりました。また拒絶反応を抑えるために現在使用されている免疫抑制剤の移植後数日間の使用で容易に制御できました。重要な点としてマウス膵島と同様にヒト移植膵島が十分に機能し免疫不全糖尿病マウス血糖を正常化できたことが上げられます。

このように今回開発した鼠蹊部皮下脂肪組織への膵島移植法は従来の肝臓内移植法を凌駕する画期的方法です。

## 3. 今後の展開

ヒトにも解剖学的にマウスと同じ皮下脂肪組織が存在するため、本研究成果はヒトでも同様の効果が期待されることから、膵島移植による糖尿病治療に画期的進歩をもたらすものと言えます。

加えて、最近では糖尿病の再生医療としてiPS細胞、ES細胞からインスリン産生細胞を創生し、移植に用いる治療法が開発が進められています。しかし、これらの細胞は移植後の発がんが危惧されるため、問題が発生したときには直ちに判定し、除去できる移植方法であることが必須です。この点に於いても今回の皮下脂肪組織内細胞移植法は最適で、今後の糖尿病治療への貢献が大いに期待できます。

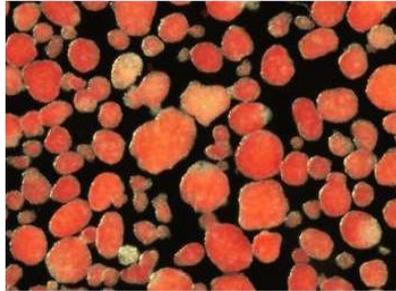


〈補足説明〉

※1 膵島

膵臓の中に細胞塊として散在し、インスリンを産生するβ細胞を含有します(図1)。β細胞は血糖値の上昇に反応して血液中へインスリンを放出(分泌)します。

図1. 単離膵島



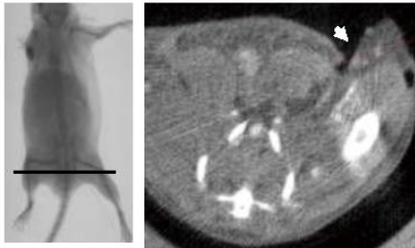
類円形を示す赤色の塊が個々の膵島、大きさは約0.2mm(直径)で約2000-3000の細胞集塊である。インスリンに含有される亜鉛が赤色に染色されている。

図2. マウス皮下脂肪組織内膵島移植法



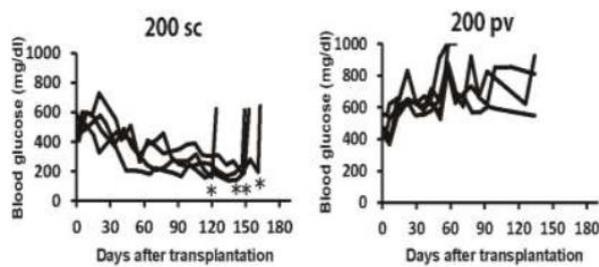
左: 左鼠蹊部皮下脂肪組織内に作成したポケット。  
右: 細径チューブに膵島を入れ(白色組織)、ポケット内に移植。

図3. マウスCT画像



左: CTのスライスライン。  
右: 造影された移植膵島(矢印)

図4. 一匹のドナー膵島(200個)移植後レシピエントの血糖値



左: 1匹のドナー膵臓より単離した200個の膵島を糖尿病マウスの鼠蹊部皮下脂肪組織内(sc)に移植。\*: 移植膵島を摘出するとレシピエントは直ちに高血糖になった。  
右: 同数の膵島を肝臓内(pv)に移植しても、レシピエントの血糖は正常化しなかった。



- [記者発表映像①](#)
- [記者発表映像②](#)
- [記者発表映像③](#)

## 1 2. 代表論文

Main - Marked Copy (To Include: Title page, Text, Abstract, References, and Tables.)

1

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

### Article, Transplantation

A novel subcutaneous site of islet transplantation superior to the liver

Yohichi Yasunami, MD<sup>1\*</sup>, Yuki Nakafusa, MD<sup>2</sup>, Naoyoshi Nitta, MS<sup>1</sup>, Masafumi

Nakamura, MD, PhD<sup>2</sup>, Masafumi Goto, MD, PhD<sup>3</sup>, Junko Ono, MD<sup>4</sup>, Masaru Taniguchi,  
MD, PhD<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>Islet Institute, Fukuoka University, Fukuoka 814-0180, Japan.

<sup>2</sup>Department of Surgery and Oncology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu  
University, Fukuoka 812-8532, Japan.

<sup>3</sup>Division of Transplantation and Regenerative Medicine, Tohoku University School of  
Medicine, 980-0872, Sendai, Japan

<sup>4</sup>Murakami Karindo Hospital, Fukuoka 819-8585, Japan.

<sup>5</sup>Laboratory for Immune Regulation, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences  
(IMS), Yokohama 230-0045, Japan.

#### \*Correspondence:

Yohichi Yasunami, MD.

7-45-1, Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan

E-mail: yasunami@fukuoka-u.ac.jp

or

Masaru Taniguchi, MD, PhD.

1-7-22, Suehiromachi, Tsurumi-ku, Yokohama 230-0045, Japan

E-mail: masaru.taniguchi@riken.jp

1

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

### **Authorship**

Y.Y. and M.T. designed the study, collected and analysed data, and wrote the manuscript; Y.N. and N.N. participated in islet isolation and transplantation and the morphological studies; M.N., M.G. and J.O. participated in research design and data analysis.

**Disclosure:** The authors declare no conflicts of interest.

**Funding:** This work was supported by MEXT-Supported Program for the Strategic Research Foundation at Private Universities in Japan (S1512005) (Y.Y.) and by funds (No. 147014) from the Central Research Institute of Fukuoka University (Y.Y.).

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Abbreviations:**

ISWAT: Inguinal subcutaneous white adipose tissue

STZ: streptozotocin

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## **Abstract**

**Background:** Islet transplantation is an attractive treatment for patients with insulin-dependent diabetes mellitus, and currently the liver is the favored transplantation site. However, an alternative site is desirable because of the low efficiency of hepatic transplantation, requiring 2-3 donors for a single recipient, and because the transplanted islets cannot be accessed or retrieved.

**Methods:** We developed a novel procedure of islet transplantation to the inguinal subcutaneous white adipose tissue (ISWAT) of mice and described functional and morphological characteristics of transplanted syngeneic islets. Also, it was determined whether islet allograft rejection in the ISWAT can be prevented by immunosuppressive agents. Furthermore, it was examined whether human islets function when grafted in this particular site of immune-deficient mice.

**Results:** In this site, transplanted islets are engrafted as clusters and function to reverse STZ-induced diabetes in mice. Importantly, transplanted islets can be visualized by CT and are easily retrievable, and allograft rejection is preventable by blockade of co-stimulatory signals. Of much importance, the efficiency of islet transplantation in this site is superior to the liver, in which hyperglycemia of diabetic recipient mice is ameliorated after transplantation of 200 syngeneic islets (the islet number yielded from

1  
2  
3 one mouse pancreas) to the ISWAT but not to the liver. Furthermore, human islets  
4  
5  
6 transplanted in this particular site function to reverse diabetes in immune-deficient mice.  
7  
8

9  
10 **Conclusion:** Thus, the ISWAT is superior to the liver as the site of islet transplantation,  
11  
12  
13 which may lead to improved outcome of clinical islet transplantation.  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## **Introduction**

Pancreatic islet transplantation has now become the procedure of choice for the treatment of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) since the report in 2000 by Shapiro et al., in which they showed that insulin-independence could be successfully achieved in patients with IDDM after islet transplantation (1). Currently, the outcome of islet transplantation has been improved, such that more than 50% of IDDM recipients are insulin-free 5 years later (2, 3), and the serious complication of severe hypoglycemic events is resolved after islet transplantation (4, 5). However, several important issues remain to be resolved, including the inability to access and retrieve transplanted islets if necessary, such as at the time of rejection. This is because the islets are transplanted via the portal vein of recipients (1) and they become diffusely localized in the periphery of the portal vein in the liver. More importantly, the efficiency of islet transplantation is low, requiring sequential transplantation of islets with the use of 2-3 donors for the treatment of a single recipient. This is mainly due to early loss of the islets caused by innate immune rejection of islets transplanted into the liver (6). These problems appear to be specific to the liver as a transplantation site, suggesting that an alternative functional site for islet transplantation may provide a way to overcome the current obstacles facing clinical islet transplantation.

1  
2  
3 Many sites other than the liver have been reported for experimental islet  
4  
5  
6 transplantation (7-9). Among them, we focused on the subcutaneous space as a  
7  
8  
9 clinically applicable site since the transplantation procedure itself is simple although its  
10  
11  
12 efficiency has previously been reported to be extremely low, in which five to ten donors  
13  
14  
15 are required to reverse diabetes of a single recipient in rats (10, 11). For transplanted  
16  
17  
18 islets to function, not only new vessel formation for supply of arterial blood but also the  
19  
20  
21 presence of latent feeding vessels adjacent to the transplanted islets to communicate  
22  
23  
24 with new vessels are essential, since otherwise the transplanted islets eventually die due  
25  
26  
27 to hypoxia. Thus, we reasoned that the extremely low efficiency of islet transplantation  
28  
29  
30 into conventional sites in the subcutaneous space is caused by hypoxic cell death after  
31  
32  
33 transplantation due to the lack of feeding vessels. Therefore, we searched for a site in  
34  
35  
36 the subcutaneous space of mice with potential feeding vessels. As a result, we found  
37  
38  
39 that the inguinal subcutaneous white adipose tissue (ISWAT), with feeding vessels from  
40  
41  
42 the inferior epigastric artery and vein, fulfills this criterion.  
43  
44  
45  
46

47  
48 In the present study, we describe a novel procedure for transplantation of islets to  
49  
50  
51 the ISWAT, where transplanted islets are engrafted to form clusters with  
52  
53  
54 neovascularization allowing visualization of transplanted islets as enhanced mass by CT  
55  
56  
57 and their easy retrieval. More importantly, hyperglycemia of STZ-induced diabetic mice  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

is ameliorated after transplantation of only 200 syngeneic islets, which is the number of islets that can be isolated from a single donor. Of note, islet allograft rejection in this site can be prevented by post-transplant short-term treatment with co-stimulatory blocking biologics. Furthermore, human islet xenotransplants can reverse STZ-induced diabetes in NOD/scid mice when grafted in this site.

1  
2  
3 **Materials and Methods.**  
4

5 All experiments were in accordance with protocols approved by the Animal Care  
6 and Use Committee at Fukuoka University (Approval number: 1703020).  
7

8  
9  
10 *Mice.* Male C57BL/6, BALB/c and NOD/*scid* mice were purchased from Charles  
11 River Japan (Kanagawa, Japan). Human islets were supplied by Prodo Lab (Irvine, CA).  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
Mice were kept under specific pathogen-free conditions and used at 6–15 weeks of age.

66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100  
101  
102  
103  
104  
105  
106  
107  
108  
109  
110  
111  
112  
113  
114  
115  
116  
117  
118  
119  
120  
121  
122  
123  
124  
125  
126  
127  
128  
129  
130  
131  
132  
133  
134  
135  
136  
137  
138  
139  
140  
141  
142  
143  
144  
145  
146  
147  
148  
149  
150  
151  
152  
153  
154  
155  
156  
157  
158  
159  
160  
161  
162  
163  
164  
165  
166  
167  
168  
169  
170  
171  
172  
173  
174  
175  
176  
177  
178  
179  
180  
181  
182  
183  
184  
185  
186  
187  
188  
189  
190  
191  
192  
193  
194  
195  
196  
197  
198  
199  
200  
201  
202  
203  
204  
205  
206  
207  
208  
209  
210  
211  
212  
213  
214  
215  
216  
217  
218  
219  
220  
221  
222  
223  
224  
225  
226  
227  
228  
229  
230  
231  
232  
233  
234  
235  
236  
237  
238  
239  
240  
241  
242  
243  
244  
245  
246  
247  
248  
249  
250  
251  
252  
253  
254  
255  
256  
257  
258  
259  
260  
261  
262  
263  
264  
265  
266  
267  
268  
269  
270  
271  
272  
273  
274  
275  
276  
277  
278  
279  
280  
281  
282  
283  
284  
285  
286  
287  
288  
289  
290  
291  
292  
293  
294  
295  
296  
297  
298  
299  
300  
301  
302  
303  
304  
305  
306  
307  
308  
309  
310  
311  
312  
313  
314  
315  
316  
317  
318  
319  
320  
321  
322  
323  
324  
325  
326  
327  
328  
329  
330  
331  
332  
333  
334  
335  
336  
337  
338  
339  
340  
341  
342  
343  
344  
345  
346  
347  
348  
349  
350  
351  
352  
353  
354  
355  
356  
357  
358  
359  
360  
361  
362  
363  
364  
365  
366  
367  
368  
369  
370  
371  
372  
373  
374  
375  
376  
377  
378  
379  
380  
381  
382  
383  
384  
385  
386  
387  
388  
389  
390  
391  
392  
393  
394  
395  
396  
397  
398  
399  
400  
401  
402  
403  
404  
405  
406  
407  
408  
409  
410  
411  
412  
413  
414  
415  
416  
417  
418  
419  
420  
421  
422  
423  
424  
425  
426  
427  
428  
429  
430  
431  
432  
433  
434  
435  
436  
437  
438  
439  
440  
441  
442  
443  
444  
445  
446  
447  
448  
449  
450  
451  
452  
453  
454  
455  
456  
457  
458  
459  
460  
461  
462  
463  
464  
465  
466  
467  
468  
469  
470  
471  
472  
473  
474  
475  
476  
477  
478  
479  
480  
481  
482  
483  
484  
485  
486  
487  
488  
489  
490  
491  
492  
493  
494  
495  
496  
497  
498  
499  
500  
501  
502  
503  
504  
505  
506  
507  
508  
509  
510  
511  
512  
513  
514  
515  
516  
517  
518  
519  
520  
521  
522  
523  
524  
525  
526  
527  
528  
529  
530  
531  
532  
533  
534  
535  
536  
537  
538  
539  
540  
541  
542  
543  
544  
545  
546  
547  
548  
549  
550  
551  
552  
553  
554  
555  
556  
557  
558  
559  
560  
561  
562  
563  
564  
565  
566  
567  
568  
569  
570  
571  
572  
573  
574  
575  
576  
577  
578  
579  
580  
581  
582  
583  
584  
585  
586  
587  
588  
589  
590  
591  
592  
593  
594  
595  
596  
597  
598  
599  
600  
601  
602  
603  
604  
605  
606  
607  
608  
609  
610  
611  
612  
613  
614  
615  
616  
617  
618  
619  
620  
621  
622  
623  
624  
625  
626  
627  
628  
629  
630  
631  
632  
633  
634  
635  
636  
637  
638  
639  
640  
641  
642  
643  
644  
645  
646  
647  
648  
649  
650  
651  
652  
653  
654  
655  
656  
657  
658  
659  
660  
661  
662  
663  
664  
665  
666  
667  
668  
669  
670  
671  
672  
673  
674  
675  
676  
677  
678  
679  
680  
681  
682  
683  
684  
685  
686  
687  
688  
689  
690  
691  
692  
693  
694  
695  
696  
697  
698  
699  
700  
701  
702  
703  
704  
705  
706  
707  
708  
709  
710  
711  
712  
713  
714  
715  
716  
717  
718  
719  
720  
721  
722  
723  
724  
725  
726  
727  
728  
729  
730  
731  
732  
733  
734  
735  
736  
737  
738  
739  
740  
741  
742  
743  
744  
745  
746  
747  
748  
749  
750  
751  
752  
753  
754  
755  
756  
757  
758  
759  
760  
761  
762  
763  
764  
765  
766  
767  
768  
769  
770  
771  
772  
773  
774  
775  
776  
777  
778  
779  
780  
781  
782  
783  
784  
785  
786  
787  
788  
789  
790  
791  
792  
793  
794  
795  
796  
797  
798  
799  
800  
801  
802  
803  
804  
805  
806  
807  
808  
809  
810  
811  
812  
813  
814  
815  
816  
817  
818  
819  
820  
821  
822  
823  
824  
825  
826  
827  
828  
829  
830  
831  
832  
833  
834  
835  
836  
837  
838  
839  
840  
841  
842  
843  
844  
845  
846  
847  
848  
849  
850  
851  
852  
853  
854  
855  
856  
857  
858  
859  
860  
861  
862  
863  
864  
865  
866  
867  
868  
869  
870  
871  
872  
873  
874  
875  
876  
877  
878  
879  
880  
881  
882  
883  
884  
885  
886  
887  
888  
889  
890  
891  
892  
893  
894  
895  
896  
897  
898  
899  
900  
901  
902  
903  
904  
905  
906  
907  
908  
909  
910  
911  
912  
913  
914  
915  
916  
917  
918  
919  
920  
921  
922  
923  
924  
925  
926  
927  
928  
929  
930  
931  
932  
933  
934  
935  
936  
937  
938  
939  
940  
941  
942  
943  
944  
945  
946  
947  
948  
949  
950  
951  
952  
953  
954  
955  
956  
957  
958  
959  
960  
961  
962  
963  
964  
965  
966  
967  
968  
969  
970  
971  
972  
973  
974  
975  
976  
977  
978  
979  
980  
981  
982  
983  
984  
985  
986  
987  
988  
989  
990  
991  
992  
993  
994  
995  
996  
997  
998  
999  
1000

*Mouse islet isolation, transplantation and retrieval.* Islets were isolated from the mouse pancreas (12, 13) and those with a diameter of 150-250  $\mu$ m were hand-picked and were transplanted into the left inguinal subcutaneous white adipose tissue (ISWAT) (SDC, Figure 1) (14) of STZ (180mg/kg) (Sigma)-induced diabetic C57BL/6 recipient mice at 3 days after the injection of STZ according to the tube method described by Ito et al (15), as follows. First, donor islets were allowed to settle in a 1.5 ml microfuge tube (Trefflab, Degersheim, Switzerland) and then were loaded into a PE50 polyethylene tube (Beckton Dickinson, Sparks, MD), approximately 20 cm in length, with the aid of a Hamilton syringe (Hamilton Company, Reno, Nevada). The PE50 tubing was then bent and placed inside a 15 ml conical tube so that the center of the tubing was placed in the bottom of the conical tube, which was centrifuged at 190 G for 1 min, thus forming an islet pellet in the center of the PE50 tubing. After measuring the length of the islet pellet using an Electronic Digital Caliper (General, New York, NY) as

1  
2  
3 an objective index of donor islet mass (SDC, Figure 2), the PE50 tubing was cut with  
4  
5  
6 scissors approximately 1 mm distant from the edge of the islet pellet and then, a  
7  
8  
9 Hamilton syringe was connected to the other side of the PE50 tubing.

10  
11  
12 Regarding the transplantation procedures, a vertical skin incision is made in the  
13  
14  
15 left inguinal area of the recipient mouse (Figure 1a, left), and the inferior epigastric  
16  
17  
18 artery and vein (Figure 1a, arrows) are identified in the ISWAT and a small pocket is  
19  
20  
21 created superiorly to the vessels (Figure 1a, middle, left), where islets loaded in P50  
22  
23  
24 tubing are deposited with the aid of a Hamilton syringe (Figure 1a, middle, right). Then,  
25  
26  
27 the opening is closed with an Anastoclip (Lemaitre, Burlington, MA) (Figure 1a, right).

28  
29  
30 Transplantation of islets into the liver via the portal vein was performed as  
31  
32  
33 reported previously (16). Transplantation of islets beneath the kidney capsule was  
34  
35  
36 performed as reported previously (17) with minor modification as follows. Briefly, after  
37  
38  
39 the exposure of the left kidney, a small incision was made on the kidney capsule and the  
40  
41  
42 subcapsular space was created with use of a glass spatula where islets loaded in the P50  
43  
44  
45 tube were placed as described above.

46  
47  
48 The retrieval of transplanted islets in the ISWAT was performed as follows. After  
49  
50  
51 a vertical skin incision, the ISWAT containing transplanted islets was dissected free and  
52  
53  
54 cut with a Bovie coagulator (Clearwater, FL) at a line approximately 3 mm distant from  
55  
56  
57

1  
2  
3 the edge of transplanted islets cluster bilaterally.  
4  
5

6 The non-fasting blood glucose levels of recipient mice were measured before and  
7  
8  
9 twice after the injection of STZ and once a week after syngeneic islet transplantation.  
10  
11

12 In the allogeneic islet transplants, the non-fasting blood glucose levels of  
13  
14 recipient mice were measured 3 times a week until 30 days after transplantation and  
15  
16  
17 once a week thereafter. Rejection was considered to have occurred when the blood  
18  
19  
20  
21 glucose levels of recipient mice exceeded the pretransplant levels of 400 mg/dl after  
22  
23 transplantation.  
24  
25

26 The blood glucose levels were measured using a GlucoCard DIA meter (Arkray,  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
Kyoto, Japan).

66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100  
*Macro photos and histology.* Transplanted islets in the ISWAT of recipient mice were  
exposed periodically after transplantation and observed under a dissecting microscope  
(Olympus, Tokyo, Japan). The excised ISWAT of recipient mice bearing islet grafts  
were fixed in 10% formalin, processed, embedded in paraffin and sectioned for  
histological analysis. Sections were stained with hematoxylin and eosin, or for  
immunofluorescent microscopic analysis. Primary and secondary antibodies used were  
the following: guinea pig anti-insulin (DAKO, 1:200), rabbit anti-glucagon (Thermo,  
1:200). Secondary antibodies used were the following: 488-alexa anti-rabbit or

1  
2  
3 anti-guinea pig IgG (Molecular Probes), Cy3 anti-rabbit IgG (Jackson). Nuclei of the  
4  
5  
6 cells were co-stained with DAPI (Sigma-Aldrich, 1mg/ml). Images were acquired by  
7  
8  
9  
10 fluorescent microscopy (Keyence BZ-9000) and by confocal microscopy (Zeiss  
11  
12 LSM710).

13  
14  
15 *Intraperitoneal glucose tolerance test.* The intraperitoneal glucose tolerance test  
16  
17  
18 (IPGTT) was performed in recipient mice at 120 days after islet transplantation. The  
19  
20  
21  
22 mice were fasted for 15 hours prior to the start of the test. Blood samples were obtained  
23  
24  
25 from the tail vein of recipient mice at 0, 30 and 120 minutes after the IP injection of  
26  
27  
28  
29 glucose (1g/kg body weight).

30  
31  
32 *μCT.* Forty min after the injection of contrast material (ExiTron™ Nano12000,  
33  
34  
35 Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany), 0.1 ml in volume via the left jugular  
36  
37  
38 vein of recipient mice, a whole body CT (Skyscan 1178, Bruker, Kontich, Belgium) was  
39  
40  
41 performed, and the CT images were acquired by NRecon (Bruker microCT) and the  
42  
43  
44 data were analyzed with DataViewer ver1.5.2.4 (Bruker microCT).

45  
46  
47 *Prevention of islet allograft rejection in the ISWAT.* BALB/c islets were grafted  
48  
49  
50 in the left ISWAT of STZ-induced diabetic C57BL/6 mice. CTLA4-Ig (500  
51  
52  
53 μg/injection/mouse, Oencia, Bristol-Myers Squibb) and/or anti-mouse CD40L antibody  
54  
55  
56 (200 μg/injection/mouse, BioXcell, West Lebanon, NH) were administered IP at day 0,  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 2, 4, 6 and 8 after transplantation and recombinant human Fc-G1 (BioXcell) and  
4  
5  
6 Amernian hamster IgG (BioXcell) were used as controls, respectively.  
7  
8

9 *Human islet experiments.* Human islets were cultured at 37°C for additional 2-3  
10  
11 days in CMRL1066 medium (Mediatech, Corning, Tewksbury, MA) containing 2%  
12  
13 human albumin (CSL Behring, King of Prussia, PA) prior to the following experiments.  
14  
15 For islet transplantation, human islets, 2000-2500 IEQ/transplant/mouse, were grafted  
16  
17 in the ISWAT of STZ (160mg/kg, iv injection)-induced diabetic male NOD/*scid* mice.  
18  
19 Functional and histological studies of transplanted human islets were performed  
20  
21 similarly to the mouse study. Human C-peptide was measured with an ELISA Kit  
22  
23 (Mercodia, Uppsala, Sweden).  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32

33 *Statistical analysis.* The statistical significance of IPGTT data was determined by  
34  
35 Two-way ANOVA. Values were expressed as mean  $\pm$  SD from independent  
36  
37  
38 experiments. The statistical significance of Kaplan-Meier curve was determined by  
39  
40  
41  
42  
43  
44 log-rank test. Any difference with a *P* value less than 0.05 was considered significant.  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## Results

### The ISWAT is a novel functional site of islet transplantation

To analyze the function of the ISWAT transplanted islets, we first used 400 syngeneic islets from two donors per transplant because this is the number of islets needed to ameliorate hyperglycemia in STZ-induced diabetic mice after transplantation into the liver (SDC, Figure 3) (6, 18). We found that the blood glucose levels of diabetic mice receiving 400 syngeneic islets in the ISWAT became less than 300mg/dl after transplantation (Figure 1b, right), while those of non-transplanted mice remained the pretransplant levels of more than 400mg/dl (Figure 1b, left). If the ISWAT containing transplanted islets were removed after transplantation, the mice promptly became hyperglycemic again (Figure 1b, \* in the right panel), indicating that amelioration of hyperglycemia after transplantation is dependent on the transplanted islets and that they remain within the ISWAT.

IPGTT revealed that the glucose intolerance of STZ-induced diabetic mice was improved at 120d day after transplantation of islets into the ISWAT, and that this improvement was abolished after retrieval of the transplanted islets (Figure 1c).

Macroscopically, islets grafted in the ISWAT were found to form clusters approximately 1-2 mm in diameter with vascularization and located close to the epigastric vessels (Figure 1d). Histologically, transplanted islets were surrounded by

1  
2  
3 adipose tissue in which individual pancreatic endocrine cells were clearly visible  
4  
5  
6 (Figure 1e).  
7  
8

#### 9 **Visualization of transplanted islets in the ISWAT by $\mu$ CT**

10  
11 The macroscopic appearance of transplanted islets, forming clusters surrounded  
12  
13 by subcutaneous adipose tissue, prompted us to determine whether they could be  
14  
15 visualized by CT. To test this, recipient mice bearing functional islet grafts in the  
16  
17 ISWAT were analyzed at day120. First, transplanted islets were exposed under  
18  
19 anesthesia and a pencil rod, 0.5mm in diameter was placed close by as an index of the  
20  
21 location as well as the size of transplanted islets (Figure 2a). CT was performed after  
22  
23 injection of contrast material via the jugular vein (Figure 2b, and a cluster of  
24  
25 transplanted islets could be visualized as an enhanced mass close to the pencil rod  
26  
27 (Figure 2c).  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40

#### 41 **Efficiency of islet transplantation into the ISWAT is superior to the liver**

42  
43 It was then critically important to evaluate the efficiency of islet transplantation in  
44  
45 a new site of the ISWAT compared with the liver, the currently favored site for clinical  
46  
47 islet transplantation. In order to evaluate the efficiency of islet transplantation into the  
48  
49 ISWAT, we reduced the number of syngeneic donor islets from 400 to 200 and further to  
50  
51 100 (half the islet number yielded from one mouse pancreas). For these experiments, the  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3 mass of donor islets was evaluated objectively by the volume (length) of donor islets  
4  
5 occupied in the PE50 tubing after centrifugation at 190G for 1 minute in addition to islet  
6  
7 count as expressed by the islet equivalent (IEQ), and found that the number of 100 islets  
8  
9  
10  
11  
12 is equal to the islet volume of 1mm in length in the PE50 tubing and of 250 IEQ by the  
13  
14  
15 count (SDC, Figure 2). Then, it was found that hyperglycemia of STZ-diabetic mice  
16  
17  
18 was ameliorated after transplantation of 200 islets to the ISWAT (Figure 3a, upper left).  
19  
20  
21  
22 When the number of islets was 100, the blood glucose levels of recipient mice became  
23  
24  
25 gradually decreased to less than 300 mg/dl in 50% of mice at 150 day after  
26  
27  
28 transplantation (Figure 3b, lower right; Kaplan-Meier curve). Removal of the fat tissue  
29  
30  
31 containing transplanted islets (\* in Figure 3a, upper left and Figure 3b, upper left) in  
32  
33  
34 recipient mice bearing 200 or 100 islets, promptly resulted in blood glucose levels of  
35  
36  
37 more than 400 mg/dl, indicating that the glucose tolerance of recipient mice is  
38  
39  
40 dependent on the transplanted islets. In contrast, when 200 or 100 syngeneic islets were  
41  
42  
43 grafted into the liver of STZ-diabetic mice, recipient mice remained hyperglycemic after  
44  
45  
46 transplantation (Figure 3a, upper right and Figure 3b, upper right). In order to examine  
47  
48  
49 the glucose tolerance of recipient mice after transplantation of 100 islets in the ISWAT  
50  
51  
52 vs the liver, IPGTT was performed at 150 day after transplantation and showed that the  
53  
54  
55 glucose tolerance of recipient mice bearing 100 syngeneic islet grafts in the ISWAT was  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3 significantly superior to that of mice with 100 intrahepatic islet grafts (Figure 3c). When  
4  
5  
6 the efficiency of islet transplantation in the ISWAT was compared with that in the renal  
7  
8  
9 subcapsular space, it was found that the efficiency in the ISWAT was equal or inferior to  
10  
11  
12 that in the renal subcapsular space when the number of donor islets was 200 (Figure 3a,  
13  
14  
15 lower right) or 100 (Figure 3b, lower right), respectively, as shown by Kaplan-Meier  
16  
17  
18 curves.  
19  
20

21  
22 **Islet allograft rejection in the ISWAT is prevented by blockade of costimulatory**  
23 **signals**  
24  
25

26  
27 We next determined whether islet allograft rejection in the ISWAT is preventable,  
28  
29 since there have been no reports showing prevention of islet allograft rejection in the  
30  
31 subcutaneous space by immunosuppressive agents. Since costimulatory blockade has  
32  
33  
34 been reported to be effective in prevention of islet allo- and xenograft rejection in other  
35  
36  
37 sites (19-21), we determined whether CTLA4Ig and/or anti-CD40L prevent islet  
38  
39  
40 allograft rejection in the ISWAT. We found that the simultaneous IP administration of  
41  
42  
43 CTLA4Ig and anti-CD40L antibody 5 times at day 0, 2, 4, 6 and 8 after transplantation  
44  
45  
46 to STZ-induced diabetic C57BL/6 mice receiving 400 BALB/c islets produced  
47  
48  
49 long-term acceptance of islet allografts, such that six out of eight recipient mice became  
50  
51  
52 normoglycemic for more than 120 days after transplantation (Figure 4a, upper left),  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3 while that of control antibodies did not (Figure 4b, lower left) (Figure 4c).

4  
5  
6 Histologically, intact islet cells were seen in the ISWAT accepting islet allografts  
7  
8  
9 (Figure 4a, right), while transplanted islets infiltrated with mononuclear cells were  
10  
11  
12 observed in the ISWAT of control group of mice rejecting islet allografts at 10 day after  
13  
14  
15 transplantation (Figure 4b, right). When diabetic mice received 400 BALB/c islets and  
16  
17  
18 were treated with either CTLA4Ig or anti-CD40L antibody, only one out of six or one  
19  
20  
21 out of five mice was normoglycemic at 120 day after transplantation (SDC, Figure 4).

22  
23  
24  
25 **Human islets can reverse STZ-induced diabetes in NOD/scid mice after**  
26  
27  
28 **transplantation into the ISWAT**

29  
30  
31 Finally, we determined whether human islets can function when grafted into the  
32  
33  
34 ISWAT. To test this, human islets were transplanted into the ISWAT of STZ-induced  
35  
36  
37 diabetic NOD/scid mice. Without islet transplantation, all mice remained hyperglycemic  
38  
39  
40 and died (Figure 5a, left). In marked contrast, hyperglycemia of the diabetic recipient  
41  
42  
43 mice was ameliorated by transplantation of 2000-2500 IEQ human islets into the ISWAT,  
44  
45  
46 and removal of the islet grafts promptly made recipient mice hyperglycemic again (\*in  
47  
48  
49 Figure 5a, right). The IPGTT revealed that the blood glucose levels of recipient mice at  
50  
51  
52 0, 30 and 120 minutes after glucose injection were similar to those of untreated naive  
53  
54  
55 mice, while in contrast, the glucose tolerance of diabetic mice without islet  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

transplantation was significantly worse (Figure 5b). Furthermore, human c-peptide was detected in the plasma of transplanted mice (Figure 5c). Histologically, the human islet cells were found to be maintained intact (Figure 5d, day 60).

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65**Discussion**

These findings clearly demonstrate that the ISWAT is a novel functional site for islet transplantation. This transplantation therapy ameliorates diabetes in mice, the transplanted islets are easily accessed, visualized by CT and retrievable, and with the improved efficiency compared with the liver, currently favorable site of clinical islet transplantation. Furthermore, islet allograft rejection is preventable by costimulatory blockade.

Currently, the liver via the portal vein is the preferred site of clinical islet transplantation, and transplanted islets delivered by this method become lodge in the periphery of the liver. Since the average size of individual islets is 150-250  $\mu\text{m}$  in diameter (22), transplanted islets in the liver are hardly detected by ultrasound, MRI or CT after transplantation, which makes it almost impossible to evaluate the transplanted islets when necessary such as at the time of rejection. Thus, from the clinical perspective, the accessibility to transplanted islets is of great importance and significance in order to evaluate their morphology as well as function. In the present study, we found that transplanted islets in the ISWAT are engrafted together to form clusters 1-2 mm in diameter, which allows their visualization by CT.

The most important finding in the present study is that the efficiency of islet transplantation into the ISWAT is superior to that when the liver is the site of

1  
2  
3 transplantation. Previously, we have shown that early loss of transplanted islets caused  
4  
5  
6 by innate immune rejection is a major factor responsible for the low efficiency of islet  
7  
8  
9 transplantation in the liver and that islet transplantation from one donor to one recipient  
10  
11  
12 in mice becomes feasible when innate immune rejection is prevented by targeting  
13  
14  
15 HMGB1-NKT cell-mediated pathway in the liver (6) (18) (23, 24). In the present study,  
16  
17  
18 we show that the efficiency of islet transplantation in the ISWAT is superior to that in  
19  
20  
21 the liver since hyperglycemia of STZ-induced diabetic mice was ameliorated after  
22  
23  
24 transplantation of 200 syngeneic islets, which is the number of islets yielded from one  
25  
26  
27 mouse pancreas, without any treatment when the site of transplantation was the ISWAT  
28  
29  
30 but not when it was the liver (Figure 3a). The superiority in the efficiency of islet  
31  
32  
33 transplantation in the ISWAT to the liver may depend on difference in innate immune  
34  
35  
36 response in the site after islet transplantation, although it remains undetermined and is a  
37  
38  
39 matter of future investigation.  
40  
41  
42  
43

44 In the current clinical setting, where the liver is the site of transplantation,  
45  
46  
47 sequential islet transplantations with the use of 2-3 donor pancreases are required for the  
48  
49  
50 treatment of a single IDDM patient (1-4). Thus, it will have a tremendous impact on  
51  
52  
53 clinical islet transplantation if the beneficial effect of islet transplantation into the  
54  
55  
56 ISWAT is recapitulated in humans. As to one of the potential reasons for the improved  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3 efficiency of islet transplantation into the ISWAT of mice, the present study may suggest  
4  
5  
6 that  $\beta$  cell mass in the adipose tissue containing transplanted islets may increase after  
7  
8  
9 transplantation, based on the finding that the blood glucose levels of recipient mice  
10  
11  
12 declined gradually after transplantation. The issue is of interest and need to determine  
13  
14  
15 whether transplanted islets expand after transplantation in this particular site.  
16  
17

18  
19 Recently, it has been reported that insulin producing cells other than allogenic  
20  
21  
22 islets, including islets from other species such as pig (25) and those derived from ES  
23  
24  
25 cells (26) and iPS cells (27, 28), might be potential donor sources. This may afford a  
26  
27  
28 solution to an essential obstacle facing clinical islet transplantation, shortage of donor  
29  
30  
31 organs for allogenic islet transplantation. For transplantation of these cells,  
32  
33  
34 subcutaneous site has now become of much attention with the strategy to induce new  
35  
36  
37 vascular formation by the treatment of the subcutaneous site prior to transplantation to  
38  
39  
40 improve engraftments of transplanted islets (11, 29). In this regard, the ISWAT might  
41  
42  
43 have an advantage since it contains the feeding vessels of the epigastric artery and vein  
44  
45  
46 (SDC, Figure 1 and SDC, Figure 5) and therefore there is no need for such pretreatment  
47  
48  
49 of transplant site to induce neovascularization. Thus, the ISWAT might be an ideal site  
50  
51  
52 for transplantation of these insulin-producing cells, where the transplanted cells can be  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3 easily evaluated and retrieved when necessary in case of serious side effects such as  
4  
5  
6 infection or tumor formation following transplantation.  
7  
8

9  
10 Taken collectively, the findings reported here should have a significant impact on  
11  
12 islet transplantation by demonstrating that the ISWAT is a novel functional site,  
13  
14  
15 providing a potential solution to current obstacles facing clinical islet transplantation if  
16  
17  
18 the finding obtained in mice is also the case in humans.  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

### **Acknowledgements**

We are grateful to Dr. Peter Burrows for helpful comments and constructive criticisms in the preparation of the manuscript. Technical supports by Yuriko Hamaguchi, Nozomi Okuyama and Yuri Otsu, Islet Institute Fukuoka University, are greatly appreciated.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## References

1. 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.* 2000; 343(4):230-238.
2. Barton FB, Rickels MR, Alejandro R, et al. Improvement in outcomes of clinical islet transplantation: 1999-2010. *Diabetes Care.* 2012; 35(7):1436-1445.
3. McCall M, Shapiro AM. Update on islet transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2(7):a007823.
4. 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.* 2016; 39(7):1230-1240.
5. Holmes-Walker DJ, Gunton JE, Hawthorne W, et al. Islet transplantation provides superior glycemic control with less hypoglycemia compared with continuous subcutaneous insulin infusion or multiple daily insulin injections. *Transplantation.* 2017; 101(6):1268-1275.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

6. Yasunami Y, Kojo S, Kitamura H, et al. Valpha14 NK T cell-triggered IFN-gamma production by Gr-1+CD11b+ cells mediates early graft loss of syngeneic transplanted islets. *J Exp Med.* 2005; 202(7):913-918.
7. Pepper AR, Gala-Lopez B, Ziff O, Shapiro AM. Revascularization of transplanted pancreatic islets and role of the transplantation site. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013:352315.
8. Komori J, Boone L, DeWard A, Hoppo T, Lagasse E. The mouse lymph node as an ectopic transplantation site for multiple tissues. *Nat Biotechnol.* 2012; 30(10):976-983.
9. Kakabadze Z, Gupta S, Pileggi A, et al. Correction of diabetes mellitus by transplanting minimal mass of syngeneic islets into vascularized small intestinal segment. *Am J Transplant.* 2013; 13(10):2550-2557.
10. Kawakami Y, Iwata H, Gu YJ, et al. Successful subcutaneous pancreatic islet transplantation using an angiogenic growth factor-releasing device. *Pancreas.* 2001; 23(4):375-381.
11. Luan NM, Iwata H. Long-term allogeneic islet graft survival in prevascularized subcutaneous sites without immunosuppressive treatment. *Am J Transplant.* 2014; 14(7):1533-1542.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

12. Sutton R, Peters M, McShane P, Gray DW, Morris PJ. Isolation of rat pancreatic islets by ductal injection of collagenase. *Transplantation*. 1986; 42(6):689-691.
13. Okeda T, Ono J, Takaki R, Todo S. Simple method for the collection of pancreatic islets by the use of Ficoll-Conray gradient. *Endocrinol Jpn*. 1979; 26(4):495-499.
14. Vitali A, Murano I, Zingaretti MC, Frontini A, Ricquier D, Cinti S. The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *J Lipid Res*. 2012; 53(4):619-629.
15. Ito T, Itakura S, Todorov I, et al. Mesenchymal stem cell and islet co-transplantation promotes graft revascularization and function. *Transplantation* 2010; 89(12):1438-1445.
16. Kemp CB, Knight MJ, Scharp DW, Lacy PE, Ballinger WF. Transplantation of isolated pancreatic islets into the portal vein of diabetic rats. *Nature*. 1973; 244(5416):447.
17. Yasunami Y, Lacy PE, Davie JM, Finke EH. Prolongation of islet xenograft survival (rat to mouse) by in vitro culture at 37°C. *Transplantation*. 1983; 35(4): 281-84.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

18. Matsuoka N, Itoh T, Watarai H, et al. High-mobility group box 1 is involved in the initial events of early loss of transplanted islets in mice. *J Clin Invest.* 2010; 120(3):735-743.
19. Lenschow DJ, Zeng Y, Thistlethwaite JR, et al. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islet grafts induced by CTLA4lg. *Science.* 1992; 257(5071):789-792.
20. Watanabe M, Yamashita K, Suzuki T, et al. ASKP1240, a fully human anti-CD40 monoclonal antibody, prolongs pancreatic islet allograft survival in nonhuman primates. *Am J Transplant.* 2013; 13(8):1976-1988.
21. Szot GL, Yadav M, Lang J, et al. Tolerance induction and reversal of diabetes in mice transplanted with human embryonic stem cell-derived pancreatic endoderm. *Cell Stem Cell.* 2015; 16(2):148-157
22. Jo J, Hara M, Ahlgren U, Sorenson R, Periwal V. Mathematical models of pancreatic islet size distributions. *Islets.* 2012; 4(1):10-19.
23. Kojima D, Mera T, Nishinakamura H, et al. Prevention of high-mobility group box 1-mediated early loss of transplanted mouse islets in the liver by antithrombin III. *Transplantation.* 2012; 93(10): 983-88.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

24. Itoh T, Nitta T, Nishinakamura H, et al. HMGB1-mediated early loss of transplanted islets is prevented by anti-IL-6R antibody in mice. *Pancreas*. 2015; 44(1):166-171.
25. Pierson RN, Dorling A, Ayares D, et al. Current status of xenotransplantation and prospects for clinical application. *Xenotransplantation*. 2009; 16(5):263-280.
26. D'Amour KA, Bang AG, Eliazar S, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*. 2006; 24(11):1392-1401.
27. Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, et al. Generation of functional human pancreatic  $\beta$  cells in vitro. *Cell*. 2014; 159(2):428-439.
28. Reznica A, Bruin JE, Arora P, et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2014; 32(11):1121-1133.
29. Pepper AR, Pawlick R, Bruni A, et al. Harnessing the foreign body reaction in marginal mass device-less subcutaneous islet transplantation in mice. *Transplantation*. 2016; 100 (7):1474-1479.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

### Figure legends

Figure 1. Islet transplantation into the inguinal subcutaneous white adipose tissue of mice.

a. Transplantation procedures. A vertical skin incision was made on the left inguinal area (left) and a small pocket was created in the inguinal subcutaneous white adipose tissue (ISWAT) after the identification of the left epigastric artery and vein (arrows) through the surface of the adipose tissue (middle, left). Then, islets loaded in the tip of the P50 tubing were placed inside the pocket (middle, right). Finally, the orifice was closed with a stapler (right). The scale represents 1mm.

b. Non-fasting blood glucose levels of STZ-induced diabetic C57BL/6 mice with or without islet transplantation into the ISWAT. Diabetic mice remained hyperglycemic and died without islet transplantation (n=5) (Control; CTL). In contrast, hyperglycemia in diabetic mice is ameliorated after transplantation of 400 islets in the ISWAT (n=13) (Tx). Individual lines represent the blood glucose levels of each animal. †; An animal died due to severe diabetes. \*; Indicates removal of transplanted islets in the ISWAT of an individual recipient mouse at the indicated time point.

c. Intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) of recipient mice at 120 days after transplantation.

1  
2  
3 The recipient mice (n=5) bearing functional islet grafts in the ISWAT received the  
4  
5  
6 IPGTT twice before ( $\diamond$ ) and 7 days after the removal of transplanted islets ( $\square$ ). The  
7  
8  
9 blood glucose levels at 0, 30 and 120 min after the glucose injection between the mice  
10  
11  
12 before and after the removal of transplanted islets were significantly different by the  
13  
14  
15 Two-way ANOVA followed by Bonferroni *post hoc test*. \*\*: P<0.01. The values are  
16  
17  
18 expressed as mean  $\pm$  SD.

19  
20  
21  
22 d. Macro photos of transplanted islets in the inguinal subcutaneous white adipose tissue  
23  
24  
25 at 60 day. Exposure of inguinal subcutaneous adipose tissue revealed that the  
26  
27  
28 transplanted islets formed clusters with new vessel formation. Left and right panels  
29  
30  
31 show macro photos at low and high magnification, respectively. Arrows indicate a  
32  
33  
34 cluster of transplanted islets with neovascularization. The scale represents 1mm.

35  
36  
37  
38 e. Micro photos of transplanted islets. The sections of transplanted islets were stained  
39  
40  
41 for H&E and for insulin (green), glucagon (red) and DAPI (blue). The right panels show  
42  
43  
44 the higher magnification of the box area in the left panels. Bar in the pictures of lower  
45  
46  
47 and higher magnification represents 200 and 50  $\mu$ m, respectively.

48  
49  
50  
51 Figure 2. Visualization of transplanted islets in the ISWAT by microCT.

52  
53  
54 a. Macro photos of transplanted islets at 120 day after transplantation. A pencil rod, 0.5  
55  
56  
57 mm in diameter and 4 mm in length (open arrow head), was placed adjacent to the

1  
2  
3 transplanted islets (closed arrow head) as an index of the size and location of  
4  
5  
6 transplanted islets on CT images.  
7

8  
9  
10 b. The CT slice line is indicated by a solid line.  
11

12  
13 c. Transplanted islets (indicated as g) were visualized as an enhanced mass (closed  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

triangle arrow) in the surrounding adipose tissue. The pencil rod (p) and the femoral  
artery (f) are shown as an arrow with open and dashed head, respectively.

Figure 3. Efficiency of islet transplantation into the ISWAT is superior to the liver.

Non-fasting blood glucose levels of STZ-induced diabetic mice (C57BL/6) receiving  
200 (a, upper left, 200 sc), 100 (b, upper left, 100 sc) syngeneic islets in the ISWAT or  
200 (a, upper right, 200 pv), 100 (b, upper right, 100 pv) syngeneic islets in the liver via  
the portal vein are shown. The blood glucose levels of diabetic mice receiving 200 or  
100 islets beneath the kidney capsule are shown in the lower left panel of a (200 kc) or b  
(100 kc), respectively. Individual lines represent blood glucose levels of each animal. \*;  
indicates removal of the ISWAT (a, b) and of the kidney (a) bearing transplanted islets  
of an individual recipient mouse at the indicated time point. Kaplan-Meier curves in the  
lower right panels of b and c indicate the percent of recipient mice with blood glucose  
levels of less than 300 mg/dl after transplantation. #: The difference between 100 kc and  
100 sc was statistically significant by log-rank test ( $P < 0.01$ ).

1  
2  
3 b. IPGTT of recipient mice at 150 days after transplantation of 100 islets into the  
4  
5 ISWAT ( $\diamond$ , n=7) or in the liver via the portal vein ( $\square$ , n=7). The difference in the blood  
6  
7  
8  
9  
10 glucose levels of mice at each time point was statistically significant by the Two-way  
11  
12 ANOVA followed by Bonferroni post hoc test. \*, P<0.05.  
13  
14

15  
16 Figure 4. Islet allograft rejection in the ISWAT is prevented by costimulatory blockade.  
17  
18 Non-fasting blood glucose levels of STZ-induced diabetic C57BL/6 mice transplanted  
19  
20 with 400 BALB/c islets in the ISWAT treated with CTLA4Ig plus anti-CD40L (a, upper  
21  
22 left, n=8) or control antibodies of CTLA4Ig plus anti-CD40L (b, lower left, n=5). The  
23  
24 bar in the figure 4a indicates the duration of the treatment. Individual lines represent  
25  
26 blood glucose levels of each animal. \*, removal of transplanted allogenic islets in the  
27  
28 ISWAT at the indicated time points. H&E and immunofluorescent stain for insulin  
29  
30 (green) and DAPI (blue) of transplanted islets in recipient mice treated with CTLA4Ig  
31  
32 plus anti-CD40L antibody at 90 days after transplantation (a, upper right) or control  
33  
34 antibodies at 10 days after transplantation (b, lower right). The images of higher  
35  
36 magnification of the lower panel show the box area in the images of the lower  
37  
38 magnification. The bars in the images of the lower and higher magnification represent  
39  
40 200 and 50  $\mu$ m, respectively. Kaplan-Meier curves (c) indicate % graft survival in  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3 recipient mice treated with CTLA4Ig plus anti-CD40L antibody (n=8) or control  
4  
5  
6 antibodies (n=5).  
7  
8

9  
10 Figure 5. Human islets function to ameliorate hyperglycemia in STZ-induced diabetic  
11  
12 NOD/scid mice after transplantation in the ISWAT.  
13

14  
15 a. Non-fasting blood glucose levels of STZ-induced diabetic NOD/scid mice without  
16  
17 transplantation (left, n=4) or transplanted with 2000-2500 IEQ human islets in the  
18  
19 ISWAT (right, n=6). Individual lines represent blood glucose levels of each animal. †;  
20  
21 animal died on the indicated day. \*; The ISWAT bearing islet grafts was removed at the  
22  
23 indicated day.  
24  
25  
26  
27  
28  
29

30  
31 b. IPGTT of recipient mice was performed at 60-90 day after transplantation, and that of  
32  
33 diabetic mice without islet transplantation at 7 days after STZ injection. Mice were  
34  
35 fasted for 15 hours prior to the examination and blood glucose levels were determined  
36  
37 at 0, 30 and 120 minutes after the glucose injection (IP, 1mg/kg). The experimental  
38  
39 groups include STZ-induced diabetic mice receiving human islets (n=3) (□), naïve  
40  
41 mice (n=6) (◇) and STZ-induced diabetic NOD/scid mice without islet transplantation  
42  
43 (n=4) (△). The blood glucose levels after the glucose injection between the mice with  
44  
45 and without islet transplantation were significantly different by the Two-way ANOVA  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

followed by Bonferroni post hoc test. \*\*\*\*;  $P < 0.0001$ . The values are expressed as mean  $\pm$  SD.

c. The human C-peptide levels in the plasma of recipient mice (n=3) at each time point of IPGTT. The values are expressed as mean  $\pm$  SD.

d. Histology of human islet grafts in the inguinal subcutaneous white adipose tissue of STZ-diabetic NOD/scid mice at 60 days after transplantation. Bar in the image represents 50  $\mu$ m.

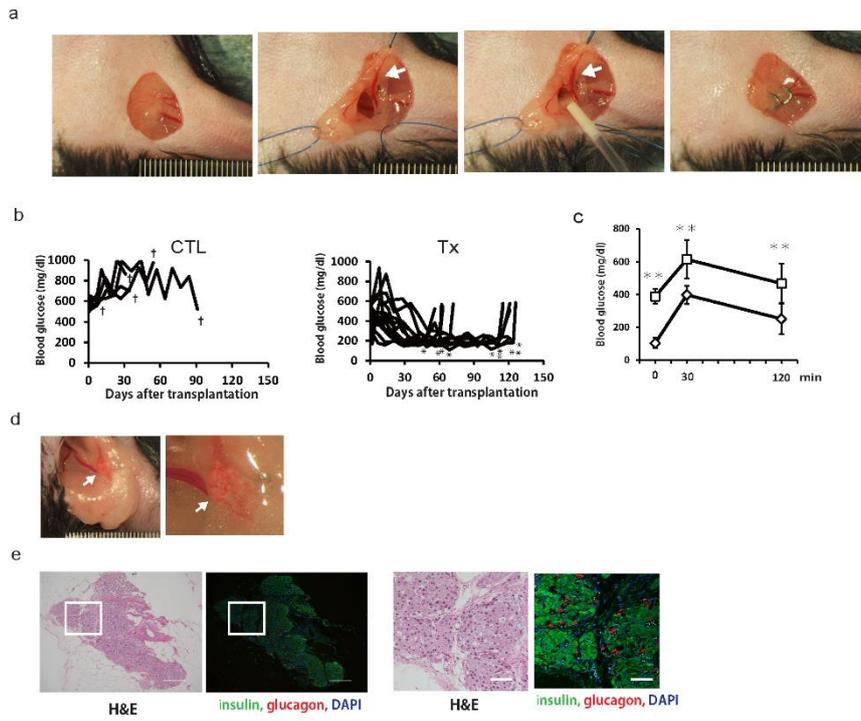


Figure 1.

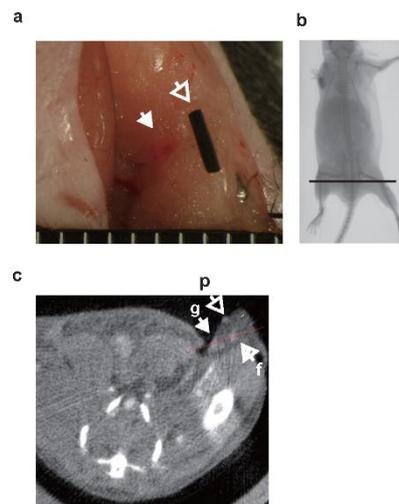


Figure 2.

Figure 3

[Click here to download Figure Figure 3.pdf](#)

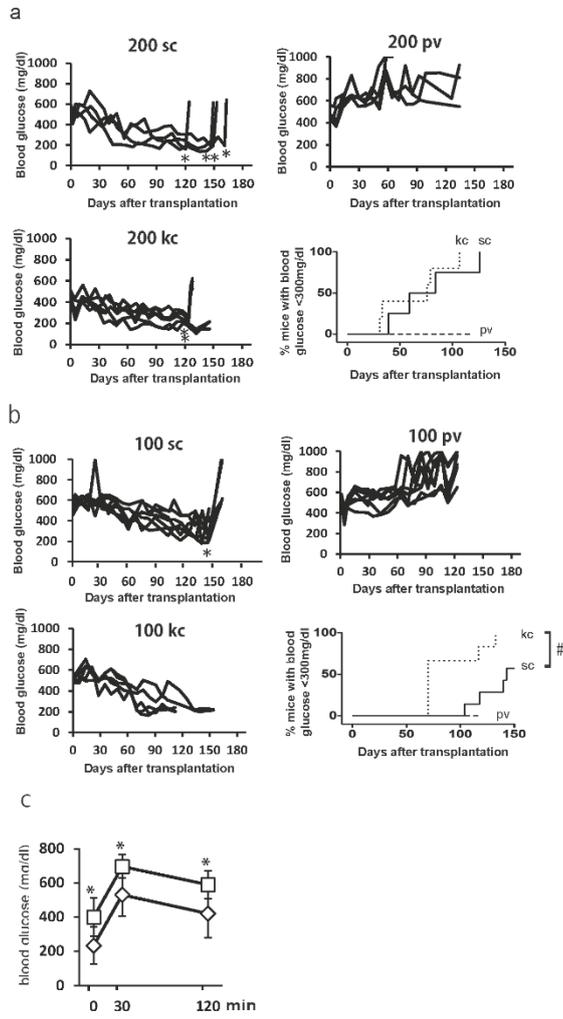


Figure 3.

Figure 4

[Click here to download Figure Figure 4.pdf](#)

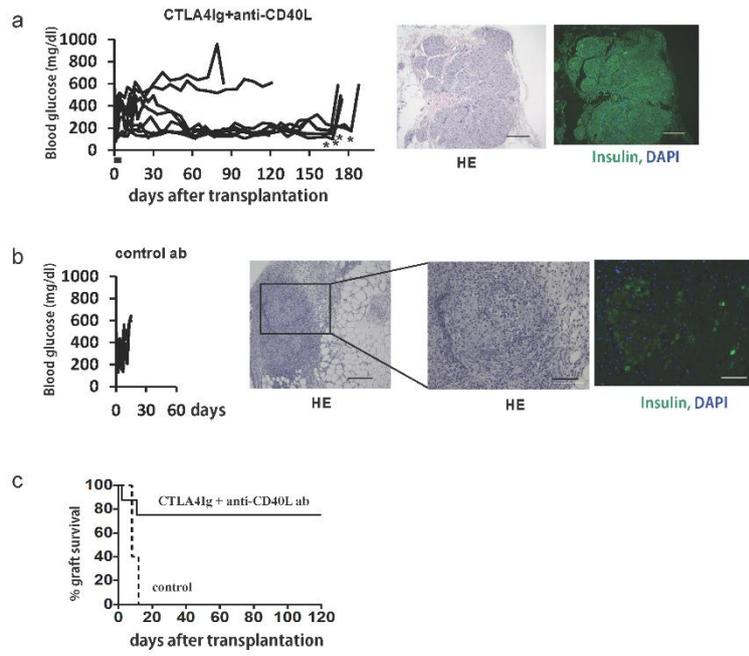


Figure 4.

Figure 5

[Click here to download Figure renamed\\_2a037.pdf](#)

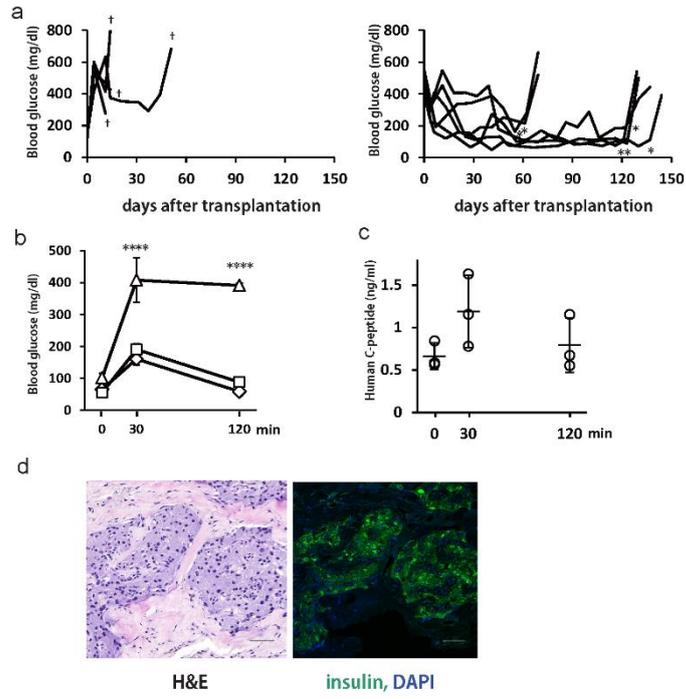


Figure 5.

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6300287号  
(P6300287)

(45) 発行日 平成30年4月4日(2018.4.4)

(24) 登録日 平成30年3月9日(2018.3.9)

(51) Int. Cl.		F 1
<b>A 6 1 K</b> 35/39	(2015.01)	A 6 1 K 35/39
<b>A 6 1 P</b> 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10
<b>A 6 1 P</b> 5/50	(2006.01)	A 6 1 P 5/50
<b>C 1 2 N</b> 5/071	(2010.01)	C 1 2 N 5/071

請求項の数 6 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願2016-513798 (P2016-513798)	(73) 特許権者	598015084
(86) (22) 出願日	平成27年4月14日 (2015.4.14)		学校法人福岡大学
(86) 国際出願番号	PCT/JP2015/061492		福岡県福岡市城南区七隈8丁目19番1号
(87) 国際公開番号	W02015/159889	(74) 代理人	100080160
(87) 国際公開日	平成27年10月22日 (2015.10.22)		弁理士 松尾 憲一郎
審査請求日	平成28年11月21日 (2016.11.21)	(72) 発明者	安波 洋一
(31) 優先権主張番号	61/979, 229		福岡県福岡市城南区七隈八丁目19番1号
(32) 優先日	平成26年4月14日 (2014.4.14)		学校法人福岡大学内
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

審査官 鳥居 福代

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インスリン産生膵島細胞移植用製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

1 ドナーのインスリン産生膵島細胞数と略同数～1/4の細胞数の同種又は異種由来インスリン産生膵島細胞を含む、栄養血管が広範囲に分布する鼠蹊部、腋下、背中、腹部から選択される少なくともいずれかの部位に存在する皮下脂肪組織へ移植してインスリン産生膵島細胞をNKT細胞活性抑制下にて生着させインスリン/グルカゴン同時陽性細胞を出現させるためのインスリン産生膵島細胞移植用製剤。

【請求項2】

請求項1に記載のインスリン産生膵島細胞移植用製剤を収容してなる糖尿病レシピエントの皮下脂肪組織へ埋設し、皮下脂肪組織へ移植してインスリン産生膵島細胞をNKT細胞活性抑制下にて生着させるための移植用細胞含有容器。

【請求項3】

インスリン産生細胞を栄養血管が分布している非ヒト動物の鼠蹊部皮下脂肪組織に、NK T細胞活性抑制下にて、1ドナーの膵島細胞数と同数から1/4の割合の細胞数割合で移植することからなるインスリン産生細胞移植方法。

【請求項4】

請求項3に記載のインスリン産生細胞移植方法であって、前記インスリン産生細胞が、ヒト膵島細胞、異種膵島細胞またはインスリン/グルカゴン同時陽性細胞であることからなるインスリン産生細胞移植方法。

10

20

## 【請求項 5】

インスリン産生細胞を栄養血管が分布している非ヒト動物の鼠蹊部皮下脂肪組織に、NK T細胞活性抑制下にて、1ドナーの膵島細胞数と同数から1/4の割合の細胞数割合で移植し、移植インスリン産生細胞がインスリンを分泌し、分泌インスリンによって非ヒト動物の糖尿病を治療することからなる糖尿病治療方法。

## 【請求項 6】

請求項 5 に記載の糖尿病治療方法であって、前記インスリン産生細胞が、ヒト膵島細胞、異種膵島細胞またはインスリン/グルカゴン同時陽性細胞であることからなる糖尿病治療方法。

## 【発明の詳細な説明】

10

## 【技術分野】

## 【0001】

この発明は新規なインスリン産生細胞移植方法に関するものである。更に詳細には、この発明は、インスリン産生細胞を皮下脂肪組織に移植する新規なインスリン産生細胞移植方法に関するものである。

## 【背景技術】

## 【0002】

糖尿病は、代表的な生活習慣関連疾患であり、炭水化物、脂質ならびにタンパク質を適切に維持ならびに利用できない複雑な慢性疾患である。糖尿病はまた様々な遺伝的、環境的要因により生じられるインスリン産生欠乏もしくはインスリン機能低下による異常な高血糖レベルに特徴がある。糖尿病の症状が進行すると、網膜症、腎症、神経障害等の合併症を引き起こし、脳卒中、脳血管障害等の発作の原因となって、その結果、患者の生活の質(QOL)の著しい低下をもたらして、最終的には患者を致命的な予後に至らしめることになる。

20

## 【0003】

最近では、糖尿病患者数は世界中で約3.5億人にも達すると推定されている(非特許文献1)。しかも、糖尿病の総患者数は、糖尿病に罹患していると強く疑われる患者や、糖尿病予備軍の患者数を加えると、その数は膨大な数になり、明らかに大問題である。それに加えて、ごく限られた数の糖尿病患者しか適切な治療を受けていないことも医学的にも、経済的にも非常に大きな問題である。

30

## 【0004】

糖尿病には2つの主要な形態、つまり1型糖尿病(T1DM)と2型糖尿病(T2DM)とがある。1型糖尿病(以前はインスリン依存糖尿病(IDDM)と知られていた)はインスリンを産生する膵細胞が特異的に破壊され、インスリンが枯渇することに特徴がある。この1型糖尿病は、子供や若年者にしばしば発症する。2型糖尿病(以前は非インスリン依存糖尿病(NIDDM)と知られていた)は、インスリン産生膵細胞の機能不全によるインスリン産生不足や筋肉や肝臓の細胞が膵臓で産生されたインスリンに適切に反応できないときなどのインスリンの相対的不足により発症する。この2型糖尿病は、大人に最も頻繁に発生するが、若者にも増加していることが注目されている。2型糖尿病は総糖尿病患者数の約90%を占めている。特に、2型糖尿病患者数は、肥満、運動不足の生活習慣、加齢によって急激に増加している。さらに注目すべきことは、2型糖尿病の多くの若年患者に膵臓の自己免疫異常が認められことから、2型糖尿病を1型糖尿病から区別すること、またはその逆の区別が難しい症例が増加していることである。

40

## 【0005】

上記したように、1型糖尿病(T1DM)患者は、ランゲルハンス島(膵島)内のインスリン産生細胞が免疫細胞の浸潤により完全にもしくはほぼすべてが破壊され、血液中のグルコース値の急激な変動を引き起こして、最終的には生命ならびに死に関わる高血糖(高血糖症)に関連する合併症の原因となる事象により、インスリン産生能力を喪失している。したがって、1型糖尿病患者は、1日に1回から数回のインスリン注射もしくはインスリンポンプによるインスリンを外部から投与することによるインスリン療法に依存せざる

50

を得ない（非特許文献2）。

【0006】

しかしながら、1型糖尿病患者がインスリンによる高度な治療を受けたとしても、血中グルコース濃度を安定的にかつ持続的に維持し、高血糖症によって引き起こされる慢性的な長期にわたる臓器障害を引き起こす合併症を予防するのは困難である。インスリン療法はまた過剰なインスリン投与の原因にもなり、それにより致命的にもなりうる重大な意識の変調を伴う急性低血糖症の発症の危険性を増加させる結果にもなる。かかる困難と危険性があるにもかかわらず、現在ではインスリン療法は、突然死に繋がる緊急状態から1型糖尿病を救命するのに非常に重要な役割を果たしている。しかしながら、インスリン療法は、あくまでも対処治療であって、1型糖尿病を完全に根治させる療法にはなりえず、低血糖症の危険性や長期にわたる合併症の発症などの非常に困難な問題が解決されないままになっている（例えば、特許文献1日本特許公開第2008-189574号公報）。

10

【0007】

1型糖尿病を治療するかかるインスリン療法の別の方法として、膵臓から単離したランゲルハンス膵島のインスリン産生細胞を1型糖尿病患者に直接移植する膵島移植法がある。この膵島移植法は、膵島細胞に障害を有する糖尿病患者にとっては理論的には優れた方法であって、臨床においても1960年代後半から幅広い試みがなされている内分泌補充療法である。この膵島移植は今では1型糖尿病治療に対する非常に有望な取り組みである。この膵島移植は、膵島細胞を肝臓の門脈に点滴にて注入するだけで移植する簡便な方法であるので、全臓器を移植する手術に比べて、手術的にも極めて安全で、かつ、危険性が高い患者にとっても実施ができるという利点がある。この膵島移植はまた腹部の手術や血管吻合の必要がないことから利点がある。これらに加えて、この膵島移植は、たとえ移植拒否反応が起こっても除去が必要なく、患者の負担が極めて低いという利点もある（例えば、特許文献1参照）。

20

【0008】

しかしながら、この膵島移植法は、早期の移植片拒絶のために移植膵島の生着率が極めて低いという欠点に直面している。したがって、1型糖尿病患者が1人のドナーの膵臓から膵島細胞の移植を受けたとしても、インスリン非依存になることができない（例えば、非特許文献3、4）。移植した膵島細胞が早期に喪失する割合は移植した膵島細胞総数の60%程度であると推定されている。したがって、現在の膵島移植においては、1人の糖尿病患者を良好な状態に治療するためには2人もしくはそれ以上の人の膵臓からの膵島細胞を繰り返し移植する必要がある（例えば、非特許文献3、4、5参照）。

30

【0009】

しかしながら、この膵島移植はまた、膵島移植片が末梢門脈中に塞栓を形成して糖尿病患者の肝臓内に着床し、対応領域において虚血性変質を引き起こすという危険性がある。このことは、移植後免疫反応を引き起こして、膵島細胞片に対して有害な炎症性サイトカインを放出する結果になりかねない。インスリンを分泌する細胞は、例えばIFN-、TNF-、IL-1等の炎症誘発サイトカインに曝露されると*in vitro*で影響を受けやすい（例えば、非特許文献6）。

【0010】

ヒトの患者に対する膵島細胞の臨床移植が初めて行われたのは、ミネソタ大学で行われた1974年である。しかしながら、その実績は、他の臓器移植に比べて、最近まで貧弱なものであった。しかしながら、2000年になって、アルバータ大学から、ステロイド剤を全く使用しないで免疫抑制を用いたいわゆる「エドモントン・プロトコール（Edmonton Protocol）」と呼ばれる臨床的膵島移植プロトコール下ではインスリンが極めて高率で放出されたとの報告が出された（例えば、非特許文献4）。それ以来、膵島移植は、1型糖尿病治療のブレイクスルーとなる方法として確立した。

40

【0011】

上記したように、膵島移植は根本的な糖尿病治療法として有用性が高まっているけれども、膵島移植を成功させるためには更なる改良が必要である。その理由は、現在の膵島移

50

植は、例えば、膵島細胞の生着率が低いこと、かかる低生着率のために多量の膵島細胞の点滴が必要なこと、さらにはドナーの数が少ないことなどの数々の問題になお直面しているためである。2006年に、シャピロら(A.M. Shapiro et al.)による、エドモントン・プロトコルを用いた膵島移植した患者の結果についての報告によると、膵島移植によって一旦はインスリン療法が必要でなくなった患者の76%が移植2年後にはインスリン療法を再開していた。

#### 【0012】

さらに、大きな問題は、現在の膵島移植では、肝臓に移植した膵島細胞の生着率が低いために、1人の糖尿病レシピエントのために、2人以上のドナーが必要であることである。このことは、ドナーが少ないという観点からしても喫緊に解決すべきことである。この問題が解決されて、ドナーとレシピエントとの割合が改善して1対1という割合になったら、膵島移植は、爆発的に普及し、糖尿病治療に多大なる貢献をすることが期待される。

10

#### 【0013】

このように膵島移植はいくつかの問題点に直面しているけれども、肝臓内膵島デリバリーを改善するという10年にも亘る研究の結果、肝臓内スペースは、膵島に対して栄養的かつ物理的な支持体となり、かつ、移植した膵島細胞の生着ならびに機能を長期間維持するのに本質的な役割を果たすことが判明した。したがって、膵島移植は、糖尿病治療にとって魅力的な方法であり、現在では、糖尿病患者の門脈経由の肝臓は臨床設定における移植部位である(例えば、非特許文献4、7参照)。しかしながら、一方では、肝臓内膵島移植は生着や機能を制限する敵対的な環境であるとの報告もある(非特許文献8、9)。この結果、膵島移植に対する多くの別の部位が、膵島の生着ならびに機能を最適化し、必要な移植膵島細胞塊の数を減少し、かつ、免疫原性を低下させるかどうか調べられた(非特許文献9、10)。

20

#### 【0014】

肝臓門脈内部位に加えて、例えば、腎臓被膜下部位、脾臓、大網(omentum)、膵臓、胃腸壁、胸腺や脳や精巣等の免疫保護部位、骨髄等の筋骨格部位、皮下部位などを含む多くの別の移植部位が調べられた(例えば、非特許文献9、11、12)。上記したように患者の多くの別の移植部位が試験されたけれども、これまで患者を非インスリン依存にすることはできなかった。その結果、門脈内膵島移植は、経験的に患者において使用するための最善の部位として認められている(非特許文献9)。

30

#### 【0015】

しかしながら、肝臓の門脈内部位以外の新規移植部位の開発は、糖尿病患者に移植された膵島細胞の損失を少なくするため、また移植すべき膵島細胞の不足に関わる問題を克服するためにも必要である。

#### 【0016】

さらに、最新の研究では、インスリンとグルカゴンの両者の顆粒を含有する膵島細胞が明らかになった。これまでは、インスリンはランゲルハンス島の細胞で産生され、グルカゴンはその細胞で産生されると知られていた(非特許文献13参照)。さらに、数十年の間インスリン欠乏が糖尿病の唯一の問題であると考えられていたけれども、グルカゴンもまた糖尿病の病因にも重要な役割を果たしていることが示唆された(非特許文献14)。

40

#### 【0017】

したがって、これらの膵島細胞は、糖尿病患者に一旦移植されると*in vivo*でこれらのホルモンを分泌するのに何らかの役割を果たしていることが期待される。

#### 【0018】

上記の背景技術を前提として、本発明者は、鋭意研究した結果、膵島細胞を移植するに際して取り扱いが簡単で、かつ、一旦移植した膵島細胞に不具合が生じた場合にすぐに摘出可能な新規の皮下移植部位を見いだした。皮下移植は従来の報告では、1匹の糖尿病レシピエントラットの糖尿病を治療するのに5匹以上のドナーラットからの約5,000個

50

の膵島細胞が必要である（非特許文献15）という程度に生着効率が非常に低いとの報告がある。本発明者は、生着効率がこのように低いのは栄養血管が不足していることで移植後に膵島細胞が低酸素で死に至ったのではないかと理由付けをした。そして、鼠蹊（そけい）部の皮下脂肪部を、両側に下腹壁動静脈の栄養血管が通っていることから（非特許文献16）、生着効率の改善が見込める新規な皮下移植部位として選択した。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0019】

【特許文献1】特開第2008-189574号公報

【非特許文献】

10

【0020】

【非特許文献1】Danaei, G., et al. Lancet, 2011, 378(9785): 31-40

【非特許文献2】Atkinson, M.A., et al. N. Engl. J. Med. 1994; 331:1428-1436

【非特許文献3】Ricordi, C., et al., 2004, Nat. Rev. Immunol., 4:259-268

【非特許文献4】Shapiro, A. M., 2000, N. Engl. J. Med., 343:230-238

【非特許文献5】Ryan, E. A., et al., 2002, Diabetes, 51:2148-2157

【非特許文献6】Rabinovitch, A., 1993., Diabetes Rev., 1: 215-240

【非特許文献7】McCall, M., et al. Cold Spring Herb. Perspect. Med. 2, a007823, 2012

【非特許文献8】Chentoufi, A.A., et al., Clin. Develop. Immun., vol. 2011, Article ID 103738, 2 pages, 2011; 20

【非特許文献9】Pepper, A.R., et al., Clin. Develop. Immun., vol. 2013, Article ID 352315, 1-13 pages

【非特許文献10】Merani, S., et al., British Journal of Surgery, vol. 95, no. 12, pp. 1449-1461, 2008

【非特許文献11】Komori, J., et al. Nat. Biotechnol. 30, 976-983 (2012)

【非特許文献12】Kakabadze, Z., et al. The American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 13, 2550-2557 (2013)

【非特許文献13】Unger, R.H. and Orci, L. Lancet. 1975; 1(7897):14-16

【非特許文献14】Bramswig, N.C., et al. The Journal of Clinical Investigation, Vol. 123, No. 3, pp. 1275-1284, 2013 30

【非特許文献15】Kawakami, Y., Pancreas, 23, 375-381 (2001)

【非特許文献16】Vitali, A., et al., J. Lipid Res. 53, 619-629 (2012)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0021】

そこで、本発明者は、糖尿病マウスの鼠蹊部の皮下脂肪組織への膵島細胞移植が血糖レベルを正常なレベルに低下させるとともに、従来の肝臓への移植と同程度に効率よい移植を達成することを見いだした。

【0022】

40

さらに、本発明者は、ドナー1人の膵島細胞数と同数または少数のインスリン産生膵島を、糖尿病レシピエント1人の皮下脂肪組織に移植するだけで該レシピエントの糖尿病を治癒できること、または長期間正常な血糖値に維持することが期待できることを見いだした。

【0023】

また、非常に驚いたことに、本発明者は、皮下脂肪組織に移植した膵島細胞中に、同一の移植膵島細胞にインスリンとグルカゴンの両者が発現しているインスリン/グルカゴン同時陽性細胞（insulin/glucagon double positive cells）を見いだした。

【0024】

したがって、この発明は、インスリン産生細胞を栄養血管が広範に分布している皮下脂 50

肪組織に移植する新規なインスリン産生細胞移植方法を提供することを目的としている。

【0025】

なお、本明細書で使用する用語「皮下脂肪組織」とは、糖尿病罹患レシピエントの皮下脂肪組織であって、その体内に局在するとともに、その膵島細胞に必須の栄養を補給できる栄養補給血管がその領域に広範に循環・分布している皮下脂肪組織を意味するものとする。かかる皮下脂肪組織としては、例えば、下腹壁動静脈が循環している鼠蹊部、腋下、背中または腹部などの皮下脂肪組織を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。これらの組織のうち、血管がその領域全体に分布しているので、鼠蹊部が好ましい。

【0026】

本明細書に使用する用語「栄養血管」とは、移植膵島に必須の栄養を皮下脂肪組織に補給できる血管を意味するものとする。かかる血管としては、例えば、動脈、静脈および/または毛細血管を挙げることができる。

【0027】

この発明はまた、糖尿病レシピエント1人の皮下脂肪組織に、ドナー1個体の膵島細胞数と同数または少数のインスリン産生膵島を移植するだけで糖尿病レシピエントの血糖値を長期間正常な血糖値に維持して糖尿病を治療することからなる新規な糖尿病治療方法を提供することを別の目的としている。

【0028】

さらに、この発明は、インスリンとグルカゴンが同一細胞中に発現する細胞であるインスリン/グルカゴン同時陽性細胞 (insulin/glucagon double positive cells) を提供することを目的としている。

【課題を解決するための手段】

【0029】

上記目的を達成するために、この発明は、インスリン産生細胞を、栄養血管が広範囲に分布している鼠蹊部皮下脂肪組織に、移植するインスリン産生細胞を、1ドナーの膵島細胞数と同数から1/10、好ましくは2/3から1/6、より好ましくは1/2から1/5の割合の細胞数割合で移植する新規なインスリン産生細胞移植方法を提供する。

【0030】

この発明の好ましい態様は、インスリン産生細胞がヒト膵島細胞、ブタ等の異種膵島細胞またはインスリン/グルカゴン同時陽性細胞 (insulin/glucagon double positive cells) であることからなるインスリン産生細胞移植方法を提供する。

【0033】

この発明の好ましい態様では、インスリン産生細胞を栄養血管が分布している鼠蹊部皮下脂肪組織に、移植するインスリン産生細胞を、1ドナーの膵島細胞数と同数から1/10、好ましくは2/3から1/6、より好ましくは1/2から1/5の割合の細胞数割合で移植し、当該移植細胞からインスリンを産生して糖尿病を治療することからなる糖尿病治療方法を提供する。

【0034】

この発明の更に別の形態では、インスリン産生細胞が1ドナーの膵島細胞数と同数から1/10、好ましくは2/3から1/6、より好ましくは1/2から1/5の割合の細胞数が含まれている細胞含有容器を、栄養血管が分布している鼠蹊部皮下脂肪組織内に留置することによって血中グルコース濃度を低下させることからなる血中グルコース濃度低下方法を提供する。

【発明の効果】

【0035】

この発明は、インスリン産生細胞を移植する移植部位を糖尿病レシピエントの鼠蹊部、腋下、背中などの栄養血管が広範囲に分布している部位に存在する皮下脂肪組織に選択することによって、移植を簡便に実施することが可能であるばかりではなく、一旦移植した

インスリン産生細胞が移植片拒絶などを惹起した場合には、その移植インスリン産生細胞を摘出できるという大きな利点がある。

【0036】

さらに、この発明は、これまで不可能であったドナー1個体のインスリン産生細胞、例えばヒト膵島またはブタ等の異種膵島細胞とほぼ同数または少ない数の膵島細胞を移植するだけで糖尿病患者の治療が可能であるという極めて大きな利点がある。

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】図1は、新規膵島移植部位としてのマウス鼠蹊部皮下脂肪組織の一部を示す図である。図1(A)は、ピンセットで持ち上げた状態の左側鼠蹊部の皮下脂肪組織を示す。図1(A)、1(B)には鼠蹊部の皮下脂肪組織の栄養血管が見える。長短矢印は大腿部動静脈ならびに下腹壁動静脈をそれぞれ示す。

10

【図2】図2は、マウス鼠蹊部皮下脂肪組織への膵島移植の手法を示す図である。図2aは左側鼠蹊部皮膚切開部の上面図である。図2bは鼠蹊部皮下脂肪組織に作成した小さなポケットを示す。図2c、2dは、ポケット内部に留置したチューブ先端に取り付けた膵島を示す。図面中、矢印はポケット中の膵島をそれぞれ示し、矢じり印はチューブ先端の膵島を示す。図2eはピンセットで持ったポケットの開口部を示す。図2fはホッチキスで閉じたポケットの開口部を示す。目盛は1mmである。

【図3】図3は、鼠蹊部皮下脂肪組織に同種同系膵島を移植したstreptozotocin (STZ) 誘発糖尿病C57BL/6マウスの血漿グルコース濃度を示すグラフである。上部の線グラフは単独のドナーマウス膵臓から膵島200個を移植した症例を、また下部の線グラフは膵島400個を移植した症例を示す。線グラフ中、印(+)を付けた線は重度の糖尿病で死亡したマウスを示し、印(\*)を付けた線は糖尿病レシピエントマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島を除去した症例を示す。

20

【図4】図4は、移植60日後の鼠蹊部皮下脂肪への移植膵島の形態を示す。図4aは露出した鼠蹊部皮下脂肪組織を示し、図中、矢印はポケットを閉じたホッチキスの針を示す。図4bの矢じり印は新しい血管形成をした移植膵島の塊を示す。図4bにおいて、短い矢印と長い矢印は下腹壁動静脈と大腿部動静脈をそれぞれ示す。

【図5】図5aは、DAP1、インスリンならびにグルカゴンについて染色した移植膵島の切片およびこれらを1つに組み合わせた画像を示す。図5bは図5aの高倍率の画像である。図5c、5d、5eはインスリン、グルカゴンならびにDAP1について染色した画像をそれぞれ示す。図5bには、インスリン/グルカゴン同時陽性細胞が示されている。図5a、5bの横線は50 $\mu$ mと5 $\mu$ mをそれぞれ示す。

30

【図6】図6は、移植後60日目の腎臓被膜下(kc、上部のパネル)と肝臓(pv、下部のパネル)内の膵島移植片の組織を示す。図中左から右に、DAP1、インスリン、グルカゴン、ならびにこれらを組み合わせた染色画像を示すパネルである。ただし、この画像にはインスリン/グルカゴン同時陽性細胞は認められない。

【図7】図7は、鼠蹊部皮下脂肪組織にヒト膵島を移植したSTZ誘発糖尿病NOD/scidマウスの血漿グルコースレベルを示す。図中、印(\*)を付けた線はレシピエントマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島を除去したことを示している。

40

【図8】図8は、移植後60日目のSTZ誘発糖尿病NOD/scidマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織中のヒト膵島移植片の共焦点顕微鏡画像を示す。図8(A)はHEで染色したヒト膵島移植片を示す。図8(B)、8(C)、8(D)は図8(A)の四角で囲った部分の拡大画像であって、インスリン、グルカゴン、DAP1について染色したヒト膵島移植片をそれぞれ示す。図8(E)は、図8(B)、8(C)、8(D)のヒト膵島移植片の染色画像を組み合わせた画像を示している。図8(E)中の矢じり印はインスリン/グルカゴン同時陽性細胞を示す。

【図9】図9は、STZ誘発糖尿病レシピエントマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織への移植後6時間目の移植膵島の形態を示す。図9(A)は移植6時間後の移植膵島のHE染色切片を示す。上部左隅の四角で囲った部分はHE染色膵島の右側部分に示した四角で囲った部

50

分の高倍率部分である。高倍率部分において、矢じり印は移植膵島の浸潤好中球を示す。図9(B)は、インスリン(緑色)ならびにGr-1(赤色)について染色した膵島移植片の免疫蛍光画像をそれぞれ示す。左図ならびに右図中の横線は100 $\mu$ mと10 $\mu$ mをそれぞれ示す。

【図10】図10は、鼠蹊部皮下脂肪組織に同種同系膵島を移植したSTZ誘発糖尿病J18欠如(NKT細胞欠乏)マウスの血漿グルコースレベルを示す線グラフである。特に、STZ誘発糖尿病J18欠如(NKT細胞欠乏)マウスの糖尿病は1匹のドナーからの膵島の1/4に相当する50個の膵島を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した後に寛解した。このことは、レシピエントのNKT細胞が欠乏した状態での鼠蹊部皮下脂肪組織への膵島移植は4倍も改善したことを示している。

10

【図11】図11は、ヒト移植膵島細胞の免疫電子顕微鏡写真である。

【発明を実施するための形態】

【0038】

この発明は、インスリン産生細胞を糖尿病レシピエントの皮下脂肪組織に移植し、移植インスリン産生細胞を皮下脂肪組織内に生着させ、インスリンを分泌することによって糖尿病レシピエントの血糖値を正常血糖値に低下させて糖尿病を治療することからなっている。

【0039】

この発明において選択できるインスリン産生細胞移植部位は、皮下脂肪組織が局在する様々な身体部分のうち、移植したインスリン産生細胞が生着しインスリンを分泌する足場として利用できる皮下脂肪組織であって、かつ、その皮下脂肪組織内に移植インスリン産生細胞に栄養を補給するのに必須の栄養補給血管が組織内に循環し分布している限り、いかなる皮下脂肪組織であってよい。かかる移植部位として好ましい例としては、鼠蹊部、腋下、背中または腹部などが挙げられる。これらの組織のうち、循環している下腹壁動静脈が移植膵島細胞に栄養を補給することができることから、鼠蹊部が好ましい。

20

【0040】

この発明において移植するインスリン産生細胞としては、例えば、ヒト膵島細胞、ブタ等の異種膵島細胞の他に、この発明にて初めて発見されたインスリンとグルカゴンとが同一細胞中に発現するインスリン/グルカゴン同時陽性細胞を挙げることができる。

【0041】

また、この発明のインスリン産生細胞移植は、糖尿病レシピエントの体内に埋設した細胞含有容器から注射で糖尿病レシピエントの皮下脂肪組織にインスリン産生膵島細胞を移植することができる。かかる容器を使用する大きな利点は、一旦移植したインスリン産生細胞が移植片拒絶を引き起こした場合、それを除去できる。このことは細胞移植により糖尿病を治療するに当たって極めて有益である。

30

【0042】

NKT細胞欠如(J18欠如)マウスを使用した本発明者による実験結果は、皮下脂肪組織に移植したインスリン産生膵島の生着率を顕著に改善したことを示している。このことは、NKT細胞が移植片拒絶に関与していることを意味している。したがって、この発明に係るインスリン産生細胞の皮下脂肪組織への移植は、早期拒絶を大幅に防止し、かつ、移植すべき細胞数を顕著に減少できるという大きな利点がある。その結果、1糖尿病患者に対して、1ドナーの細胞数と同数もしくは少数の細胞を移植することができる。換言すると、この発明の移植方法は、1ドナーのインスリン産生細胞を、1もしくは複数の糖尿病レシピエントに移植して糖尿病レシピエントの糖尿病を逆転もしくは寛解することができる。更に詳細には、1糖尿病患者の皮下脂肪組織に、1ドナーの細胞数の1/1~1/10、好ましくは2/3~1/6、より好ましくは1/2~1/5の細胞数を移植すればよい。

40

【0043】

この発明に係るインスリン産生膵島細胞の皮下脂肪組織への移植方法は、糖尿病の治療・寛解の効果的な方法である。この発明は、細胞移植方法が極めて単純でかつ従来の手法

50

で移植でき、かつ、皮下脂肪組織に移植する細胞の数を劇的に低減することができ、かつ、移植した細胞を必要なら移植後でも移植した皮下脂肪組織から除去できるという利点がある。

【 0 0 4 4 】

最近の状況では、2型糖尿病の多くの若年患者に膵臓の自己免疫異常が認められことから1型糖尿病と2型糖尿病とを識別するのが困難な例が増加している。したがって、この発明は、以上の説明は1型糖尿病患者を例に挙げて主に説明したが、細胞移植を必要とする2型糖尿病患者にも1型糖尿病患者と実質的に同じ方法で適用できることにも注目すべきである。

【 0 0 4 5 】

上記したように、本発明者が初めて見出したインスリンとグルカゴンの両者が移植した同一の細胞内に発現するインスリン/グルカゴン同時陽性細胞は、インスリン顆粒とグルカゴン顆粒は同一細胞中で別個にかつ独立して染色された。このインスリン/グルカゴン同時陽性細胞は、腎臓被膜下移植膵島にも、肝臓内移植膵島にも見出せなかった。このインスリン/グルカゴン同時陽性細胞が、どの細胞から、つまり、細胞、細胞またはその他の細胞から派生したのかはまだ未解明のままである。

【実施例】

【 0 0 4 6 】

この発明を実施例により詳細に説明するが、下記実施例は、この発明を限定するものではなく、例示の目的だけで説明するものである。したがって、この発明は、上記の明細書の記載ならびに下記の実施例から派生するあらゆる改変ならびに改良をこの発明の範囲内に包含するものである。

【 0 0 4 7 】

〔材料ならびに方法〕

(マウス)

オスのC57BL/6ならびにNOD/scidマウスはチャールス・リーバー・ジャパン社(日本神奈川県)から購入した。J18欠如(NKT細胞欠如)マウスは文献記載の方法で作製し(Cui, J., et al. Science 278, 1623-1626 (1997))、C57BL/6マウスに戻し交雑した。マウスは特定の無菌室で飼育し、8-16週齢で実験に使用した。全ての実験は福岡大学動物管理使用委員会の事前承認を受けたプロトコールに従って実施した。

【 0 0 4 8 】

(マウス膵島単離、移植ならびに回収)

膵島は文献記載の手法(Sutton, R., et al., Transplantation, 42, 689-691 (1986); Okeda, T., et al., Endocrinol. Jpn. 26, 495-499 (1979))に従って単離し、直径150-250 $\mu$ mのマウスを厳選して実験に供した。単離した膵島は、CO<sub>2</sub>培養器(5%CO<sub>2</sub>+95%空気)内で10%FBS添加培地(D-MEM、ニッスイ)を用いて24で1夜培養し、ドナーとして使用した。膵島は、STZ注射3日目に、STZ(Sigma)(180mg/kg)誘発糖尿病シンジェニックレシピエントマウスの左側鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した。非絶食状態の血漿グルコースレベルを、GlucoCard DIA meter (Arkray)を用いてSTZ注射の前後2回、膵島移植後は週に1回測定した。移植細胞の回収に当たっては、糖尿病レシピエントの膵島を含むポケットの閉口に使用したホッチキスの針をまず確認して、その針の基部と末端側を約5mmの長さに切除して以下の実験に使用した。比較のために、STZ誘発糖尿病レシピエントの肝臓内(Kemp., C. B., et al. Nature 244, 447 (1973))または腎臓被膜下(Yasunami, Y., et al., Transplantation 35, 281-284 (1983))に移植した。

【 0 0 4 9 】

(形態)

膵島移植片を有する糖尿病レシピエントの切除した鼠蹊部皮下脂肪組織、肝臓ならびに腎臓は、10%ホルマリンで固定、加工、パラフィン包埋した後、形態分析のために切片

にした。切片は、ヘマトキシリンとエオシンで染色し、免疫蛍光顕微鏡で観察した。使用した抗体は次の通りである：抗インスリン抗体、抗グルカゴン抗体、抗ソマトスタチン抗体ならびに抗 P P 抗体。染色した膵島移植切片は蛍光顕微鏡で観察した。

【 0 0 5 0 】

( ヒト膵島移植 )

ヒト膵島は、Prodo Lab (Irvine, CA) から提供を受け、下記実験前 2 - 3 日間 2 % ヒトアルブミンを含む CMRL1066 培地 (Mediatech) 中において 2 4 で培養した。

【 0 0 5 1 】

膵島移植のために、全体で 3 バッチのヒト膵島細胞を使用した。各バッチにつき、膵島細胞 (1500 IEQ) を用いた移植を 1 - 2 回実施した。ヒト膵島細胞は、S T Z (170mg/kg, iv 注射) 誘発糖尿病オス N O D / s c i d マウスの鼠蹊部皮下脂肪組織内または 1 個の腎臓被膜下に移植した。非絶食血漿グルコース値と体重は移植後週 1 回測定した。ヒト膵島移植片を持つ糖尿病レシピエントの鼠蹊部皮下脂肪組織と腎臓を摘出し、10%ホルマリン固定、パラフィン包埋後、形態分析のために切片にした。

10

【 0 0 5 2 】

( 統計分析 )

膵島移植後の S T Z 誘発糖尿病マウスの正常血糖率についての統計分析は、Fisher's exact test によって決定した。p 値が 0 . 0 5 未満である場合は有意差ありと判断した。

【 実施例 1 】

【 0 0 5 3 】

この実施例では、図 1 を参照して、マウスの鼠蹊部皮下脂肪組織への膵島移植の手法を説明する。

20

【 0 0 5 4 】

図 1 は、マウスの左側鼠蹊部皮下脂肪組織の解剖所見を示す。図 1 ( A ) と図 1 ( B ) は、栄養血管が認められる左側鼠蹊部皮下脂肪組織をピンセット ( 左側 ) で持ち上げた状態をそれぞれ示す。図中、長短矢印は大腿部動静脈と下腹壁動静脈とをそれぞれ示す。

【 0 0 5 5 】

図 2 はマウス鼠蹊部皮下脂肪組織へ膵島移植をした状態を示す。図 2 ( a ) はマウスの左側鼠蹊部皮下脂肪組織の皮膚切開口部を上から見た図である。図 2 ( b ) は鼠蹊部皮下脂肪組織に設けた小さなポケットを示している、縫合線で開口を開いた状態に保っている。図 2 ( c )、2 ( d ) はポケット内部に留置したチューブ先端に存在する膵島細胞を示す。図 2 ( c )、2 ( d ) 中、矢印はポケットに配置した膵島細胞を示し、矢じり印はチューブ先端の膵島細胞を示す。図 2 ( e ) は鉗子で保持したポケットの開口部を示し、図 ( f ) はホッチキスの針で閉口したポケットの開口部を示す。図中、目盛は 1 mm である。

30

【 0 0 5 6 】

図 3 は、同種同系膵島細胞を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植したストレプトゾトシン ( S T Z ) 誘発糖尿病 C 5 7 B L / 6 マウスの血漿グルコースレベルのグラフを示す。上部のグラフは膵島細胞 2 0 0 個を移植した症例、下部のグラフは膵島細胞 4 0 0 個を移植した症例を示す。各線グラフは各マウスの血漿グルコースレベルを示す。図中、個々の線は各動物の血漿グルコースレベルを表わしている、印 ( + ) は重篤の糖尿病で死亡したマウスを示し、印 ( \* ) は各レシピエントの鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島細胞を除去したことを示す。

40

【 0 0 5 7 】

図 3 で示した結果は、S T Z 誘発糖尿病マウスの高血糖症が、同種同系膵島細胞 4 0 0 個を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した後に寛解したが、同種同系膵島細胞 2 0 0 個を移植した場合には寛解しなかったことを示している。この移植によって達成された移植効率は、本発明者らによってこれまで報告された従来の肝臓に対する移植の場合と同等であった ( Yasunami, Y., et al., J. Exp. Med., 202, 913-918 (2005); Matsuoka, N., et al., J. Clin. Invest., 120, 735-743 (2010) )。これに加えて、しかしながら、図 3 は、同種

50

同系膵島細胞 400 個を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植して正常血糖になった後に、鼠蹊部皮下脂肪組織から膵島移植片を除去するとすぐに高血糖症に戻ってしまったことを示している。この結果は、移植後の正常血糖が移植膵島細胞に依存していることを示している。

【0058】

図4は移植60日後の鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島細胞の形態を示す。図4(a)は膵島細胞を移植した鼠蹊部皮下脂肪組織の露出表面部分を示す。図中、矢印はポケットの閉口に使用したホッチキスの針を示す。図4(b)は、新規血管が形成された塊状の移植膵島細胞を示す(矢じり印)。図4(b)中に示す長短の矢印は、下腹壁動静脈と大腿部動静脈とをそれぞれ示す。

【0059】

図4の結果から、鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島細胞のいくつかに新規な血管が形成されたうえに様々な大きさの塊り状に形成されていることが顕微鏡的に示されている。また移植した膵島細胞が膵臓の内分泌細胞が認められる脂肪組織によって取り囲まれていることが顕微鏡的に判明した。

【0060】

驚いたことに、同種同系膵島細胞をマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織に移植したところ、移植した膵島細胞内に、インスリンがグルカゴンと一緒に存在しているインスリン/グルカゴン同時陽性細胞が形成されていることが判明した。図5bは、移植膵島細胞内に形成したインスリン/グルカゴン同時陽性細胞の顕微鏡写真を示す1連のパネルを示す。移植膵島細胞の切片は、インスリン、グルカゴンならびにDAP1についてそれぞれ染色し、共焦点蛍光顕微鏡で観察した。

【0061】

図5は、移植した膵島細胞にインスリン/グルカゴン同時陽性細胞が出現した状態を共焦点蛍光顕微鏡で観察した図を示す。移植後120日目にインスリン、グルカゴン、ならびにDAP1について染色した移植膵島の切片をDAP1(青色)、インスリン(緑色)ならびにグルカゴン(赤色)についてそれぞれ染色した移植膵島細胞をそれぞれ示し、またこれらの染色画像を組み合わせた画像を示す。上部ならびに下部の組合せ画像パネル中の各横線は50 $\mu$ mと10 $\mu$ mをそれぞれ示す。左側上部画像の四角で囲った部分は高倍率の画像パネルで、その四角部分の高倍率画像を下部の組合せ画像パネルに示す。図11は移植したヒト膵島細胞中にインスリンとグルカゴンが同時に発現した免疫電子顕微鏡写真を示している。本顕微鏡写真の左図は、組織切片を18nmと12nm金粒子にそれぞれ結合した抗インスリン抗体ならびに抗グルカゴン抗体で染色して撮影したものであり、図中四角で囲った部分に同在する2個のグルカゴン顆粒(中抜き矢じり印)と1個のインスリン顆粒(黒塗り矢じり印)を拡大した図である(右図)。

【0062】

図6は、移植後60日目の腎臓被膜下(kc、上部パネル)と肝臓内(pv、下部パネル)の膵島移植片の組織分析を示す。この結果にはインスリン/グルカゴン同時陽性細胞は認められなかった。横線は50 $\mu$ mを示す。

【0063】

興味深いことに、インスリン/グルカゴン同時陽性細胞は、移植30日後と60日後にピークとして移植膵島細胞のいくつかに出現したことが示された。インスリン/グルカゴン同時陽性細胞には、インスリンとグルカゴンの顆粒が同一細胞内の細胞質中に別々に図5および図11に示すように染色された。反対に、インスリン/グルカゴン同時陽性細胞は、図6に、レシピエントマウスの腎臓被膜下にも、肝臓内にも認められなかったことは注目すべきである。

【実施例2】

【0064】

本実施例は、ヒト膵島細胞を、STZ誘発糖尿病NOD/scidマウスに移植した症例に関する。驚いたことに、いくつかの移植膵島細胞がインスリン/グルカゴン同時陽性細胞に変換されていたことが判明した。

## 【 0 0 6 5 】

図7は、ヒト膵島細胞を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植したS T Z誘発糖尿病NOD / s c i dマウスの血漿グルコースレベルを示す線グラフである。印( \* )は、糖尿病レシピエントの皮下脂肪組織に移植した膵島細胞を除去したことを意味する。

## 【 0 0 6 6 】

図7に示す結果は、マウス膵島細胞について得られた上記知見はヒト膵島細胞についての症例にも当てはまることを示す。図7は、ヒト膵島細胞( 1 5 0 0 I E Q )を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した後、S T Z誘発糖尿病NOD / s c i dマウスの血糖が正常血糖になり、移植膵島細胞を除去するとすぐに再度高血糖に戻ったことを示す。

## 【 0 0 6 7 】

図8は、ヒト膵島細胞を移植した60日後のS T Z誘発糖尿病NOD / s c i dマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織中のヒト膵島移植片の共焦点顕微鏡画像を示す。図8(A)は、移植後60日目のマウスのH E染色移植切片を示し、図8(B)、8(C)、8(D)および8(E)は、図8(A)で四角に囲った部分のヒト膵島細胞の共焦点顕微鏡画像を示す。図8(B)はインスリンについて染色した断面部分を示し、図8(C)はグルカゴンについて染色した断面部分を示す。図8(D)はD A P 1について染色した断面部分を示す。図8(E)は、図8(B)~8(D)の3つの画像を合併して1画像にした組合せ画像であり、矢じり印で示した細胞はインスリン/グルカゴン同時陽性細胞である。H E染色画像と免疫蛍光染色画像中の横棒の長さは200 $\mu$ mと20 $\mu$ mをそれぞれ示す。驚いたことに、図8には、インスリン/グルカゴン同時陽性細胞が大量に鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島移植片に現れたことが示されている。

## 【 実施例 3 】

## 【 0 0 6 8 】

本実施例は、低い移植効率が膵島移植の臨床応用を制限する主要な要因であることから、鼠蹊部皮下脂肪組織を移植部位に選択したときの膵島移植効率を評価するものである。したがって、鼠蹊部皮下脂肪組織という新規移植部位は、もしこの障害を潜在的に解決するものでなければ、臨床で現実には利用できない。

## 【 0 0 6 9 】

図9は、S T Z誘発糖尿病レシピエントの鼠蹊部皮下脂肪組織に移植後6時間目の移植膵島細胞の組織分析を示す。図9(A)はH Eで染色した移植膵島細胞の断面を示す。上部左隅の四角部分は、図9(A)で示したH E染色した左側に示した四角部分の高倍率画像である。この四角部分の高倍率画像において、矢印は移植膵島細胞内の湿潤好中球を示す。図9(B)は、インスリン(緑色)と好中球マーカーであるG r - 1(赤色)について染色した膵島移植片の免疫蛍光画像である。図9(A)および9(B)の画像中の横棒は、100 $\mu$ mおよび10 $\mu$ mとをそれぞれ示す。

## 【 0 0 7 0 】

図9に示すように、組織学的には、鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島移植片は、移植後6時間目には好中球で湿潤されていた。これらの知見は、本発明者が以前論文(非特許文献8)に報告した肝臓に移植した移植膵島細胞に見られた知見と正確に類似している。このことは、N K T細胞依存好中球活性化がこの部位への膵島細胞移植の早期損失に根本的な役割をも果たしていることを示唆している。

## 【 0 0 7 1 】

図10は、同種同系膵島細胞を鼠蹊部皮下脂肪組織に移植したS T Z誘発糖尿病J 18欠如(N K T細胞欠如)マウスの血漿グルコースレベルを示す線グラフである。最上部のグラフは、同種同系膵島細胞200個を移植した症例、上から2番目のグラフは100個を移植した症例、上から3番目のグラフは50個を移植した症例、一番下のグラフは25個を移植した症例を示す。

## 【 0 0 7 2 】

上記の結果から、移植膵島細胞が容易に回収でき、かつ、より重要なことには、膵島細胞50個、つまり1ドナーの1/4の膵島細胞を、N K T細胞を標的にして移植すること

で、糖尿病を逆転もしくは寛解できることから、鼠蹊部皮下脂肪組織が膵島細胞移植の新規な機能的な部位であることを示している。さらには、出生後には全く見られなかったインスリン/グルカゴン同時陽性細胞がマウスにみられると共に、ヒト膵島細胞移植片がこの部位にだけ認められた。

【0073】

総括すれば、上記の知見は、鼠蹊部皮下脂肪組織が、臨床的膵島移植が直面する現在の障害、つまり、移植膵島細胞の評価・回収の困難さならびに低移植効率に対する潜在的な解決法となりうる膵島移植の新規な機能的な部位となることを示していることから、膵島移植の臨床応用に対して大きな影響を有している。更には、この発明は、インスリン/グルカゴン同時陽性細胞がマウスの鼠蹊部皮下脂肪組織に移植した膵島細胞にだけ出現し、このインスリン/グルカゴン同時陽性細胞が細胞、細胞またはその他の細胞群もしくは内分泌前駆体から派生したかどうかは未定であるけれども、細胞分化の新規な *in vivo* モデルを提供しているとの証拠を提供する。

10

【図1】

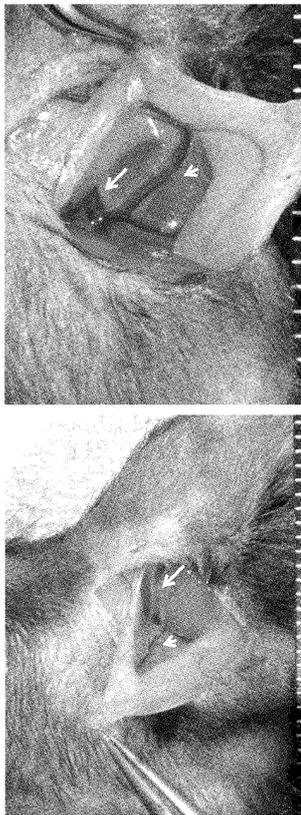


Figure 1. Anatomy of inguinal subcutaneous fat tissue in mice as a novel site of islet transplantation. Left inguinal fat tissue is lifted with forceps (left). Feeding vessels of inguinal fat tissue are shown (left and right). Long and short arrows show femoral and inferior epigastric artery and vein, respectively.

【図2】

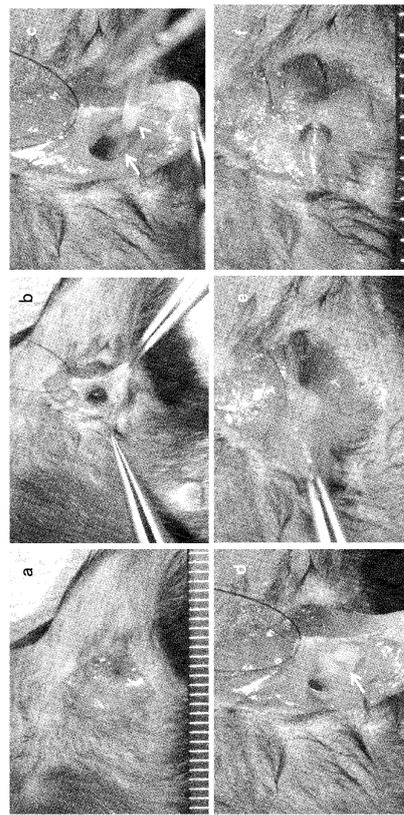


Figure 2. Islet transplantation into inguinal subcutaneous fat tissue in mice. a: A vertical skin incision on the left inguinal area was placed. b: A small pocket was created in the inguinal subcutaneous fat tissue. A stay suture was placed to keep the orifice open. c & d: Islets loaded in the tip of the tube were placed inside the pocket. Arrow: Islets in the pocket. Arrow head: Islets in the tip of the tube. e: The orifice of the pocket is held with forceps and closed with a staple. The scale represents 1mm.

【 図 3 】

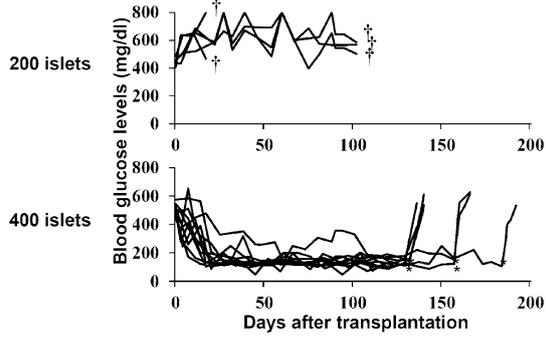


Figure 3.  
 Plasma glucose levels of streptozotocin-induced diabetic C57BL/6 mice receiving syngenic islets into inguinal subcutaneous fat tissue.  
 Hyperglycemia of diabetic mice is ameliorated after transplantation of 400 but not 200 islets. Individual lines represent the plasma glucose levels of each animal. †: An animal died due to severe diabetes. \*: Removal of transplanted islets in inguinal subcutaneous fat tissue of individual recipient mice indicated.

【 図 4 】

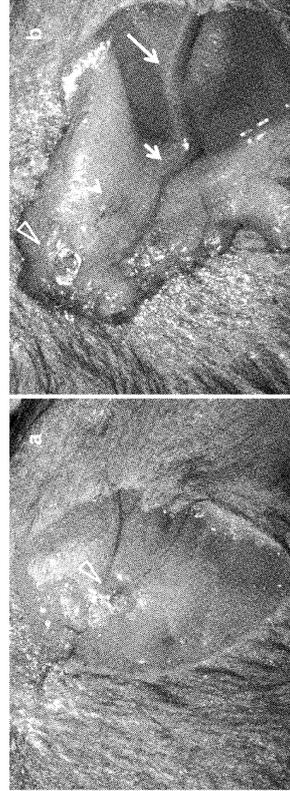


Figure 4.  
 Macroscopic appearance of transplanted islets into inguinal subcutaneous fat tissue at 60 day.  
 a: Exposure of inguinal subcutaneous fat tissue. A staple (triangle) used for closure of the pocket is seen in the middle.  
 b: Transplanted islets formed clumps with new vessel formation is seen (arrow head). Short and long arrows indicate inferior epigastric and femoral artery and vein, respectively.

【 図 5 】

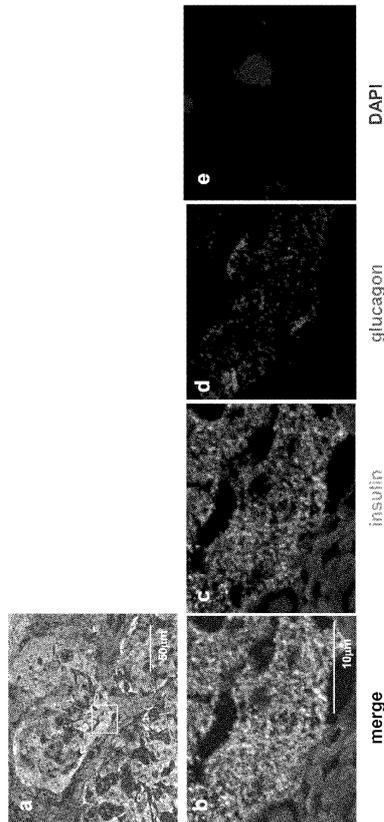


Figure 5.  
 Appearance of insulin/glucagon double positive cells in transplanted islets.  
 The sections of islet grafts at 120 day were stained for insulin, glucagon and DAPI and observed under the confocal fluorescent microscopy. The box area shown in the left upper photo was shown in the lower panels of higher magnification. Bars in the upper and lower photos represents 50 and 10 μm, respectively.

【 図 6 】

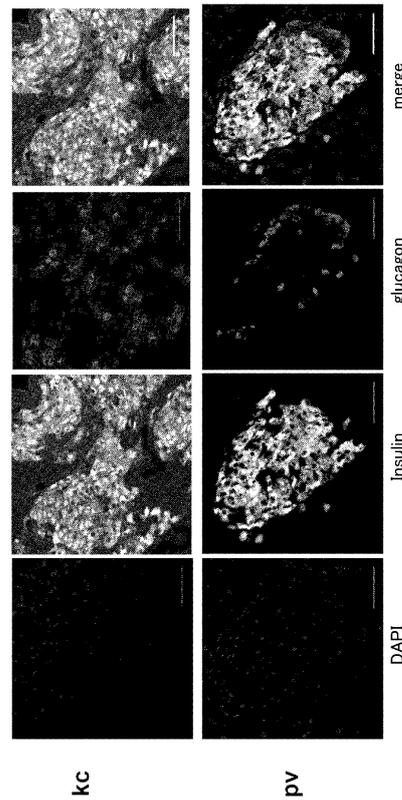


Figure 6.  
 Histology of islet grafts beneath the kidney cap (kc, upper panel) or in the liver (pv, lower panel) at 60 days after transplantation. No insulin/glucagon double positive cell was seen. Bars represent 50 μm.

【 図 7 】

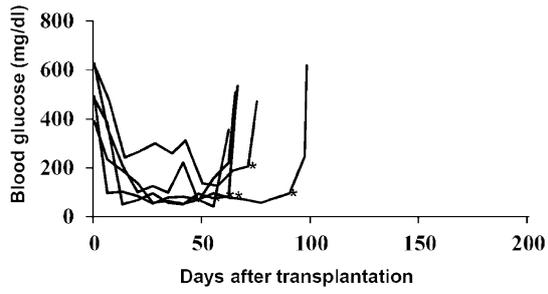


Figure 7. Plasma glucose levels of STZ-diabetic NOD/scid mice receiving human islets in the inguinal subcutaneous fat tissue.

【 図 8 】

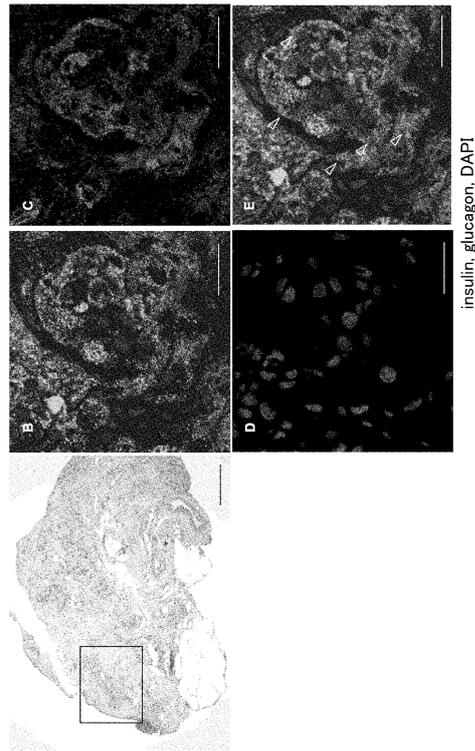


Figure 8. Confocal microscopy photos of human islet grafts in the inguinal subcutaneous fat tissue of STZ-diabetic NOD/scid mice at 60 days after transplantation. Arrows indicate insulin/glucagon double positive cells. Bars in the HE and immuno-fluorescent stains represent 200 and 20  $\mu$ m, respectively.

【 図 9 】

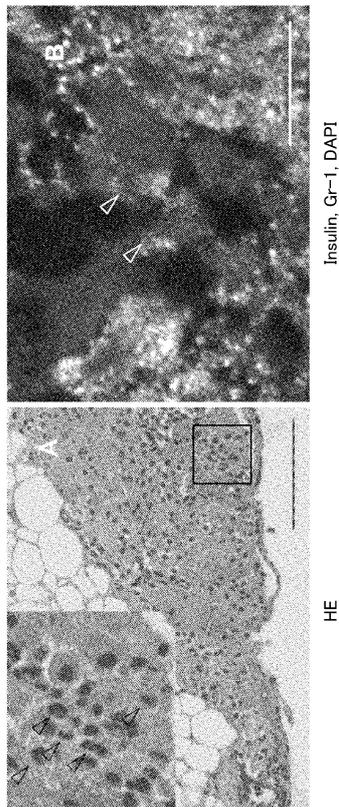


Figure 9. Histology of transplanted islets at 6 hours after transplantation in the inguinal subcutaneous fat tissue of STZ-induced diabetic recipient mice. The higher magnification of the box area in the left HE stain is shown in the left upper corner of the photo showing infiltrating neutrophils (arrows) in transplanted islets. Immuno-fluorescent photo of islet grafts (right) stained for insulin (green) and Gr-1 (red) is shown. Bar, 100 and 10- $\mu$ m in the left and right panel, respectively.

【 図 10 】

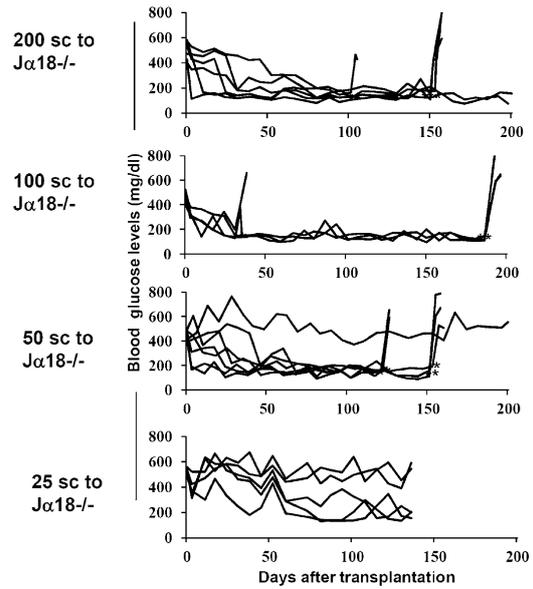


Figure 10. Plasma glucose levels of J $\alpha$ 18-/- deficient (NKT cell-deficient) mouse receiving syngenic islets into inguinal subcutaneous fat tissue.

【 1 1 】

**Double positive cells proved by EM**

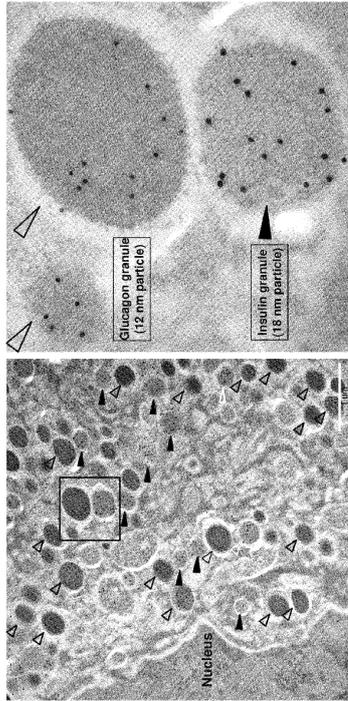


Figure 2D. Immuno-electron microscopy photos of a human transplanted islet cell. Sections were stained for anti-insulin and anti-glucagon antibody conjugated with 18 and 12 nm gold particles, respectively. The box area in the left photo is shown in higher magnification in the right photo, in which two glucagon granules and one insulin granule labeled with corresponding particles are seen. The oblique (black) and horizontal (yellow) triangles indicate individual glucagon and insulin granules, respectively.

## フロントページの続き

(56)参考文献 国際公開第2011/016423(WO, A1)

特開2001-299908(JP, A)

特表平06-507412(JP, A)

FUMIMOTO, Y. et al., Creation of a Rich Subcutaneous Vascular Network with Implanted Adipose Tissue-Derived Stromal Cells and Adipose Tissue Enhances Subcutaneous Grafting of Islets in Diabetic Mice, Tissue Engineering, Part C, 2009年, Vol.15, No.3, pp.437-444

Jovanovic-Peterson L. et al., Studies of human fetal pancreatic allografts in diabetic recipients without immunosuppression, The Journal of diabetic complications, 1989年, Vol. 3, No. 2, pp.107-112

MIYATA M. et al., Segmental auto-transplantation of the pancreas, The Japanese journal of surgery, 1987年, Vol. 17, No. 1, pp. 41-46

Forster Natasha A et al., A prevascularized tissue engineering chamber supports growth and function of islets and progenitor cells in diabetic mice, Islets, 2011年, Vol. 3, No. 5, pp. 271-283

Borud L J et al., Prefabrication of a neo-endocrine organ: a rat model, The Journal of surgical research, 1996年, Vol. 61, No. 1, pp. 221-226

Papachristou D. N. et al., A simple method of pancreatic transplantation in the dog, American journal of surgery, 1980年, Vol. 139, No. 3, pp. 344-347

Brown David L., Survival and function of transplanted islet cells on an in vivo, vascularized tissue engineering platform in the rat: A pilot study, Cell transplantation, 2006年, Vol. 15, No. 4, pp. 319-324

Borud L. J., The fasciovascular flap: a new vehicle for islet transplantation, Cell transplantation, 1994年, Vol. 3, No. 6, pp. 509-514

川上義行ら, 膵島細胞皮下移植法の確立: 血管新生誘導性増殖因子/塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)徐放性デバイスを用いた検討, 膵臓, 2002年, 第17巻, 第2号, 第165-167頁

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 35/00 - 35/768

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)