

虚血腓における虚血再灌流傷害の機序の解明とその防止法

および viability 評価法の開発に関する研究

[研究課題番号 12470248]

平成 12 年度～平成 14 年度科学研究費補助金

[基盤研究(B) (2)]

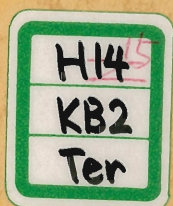
研究成果報告書

平成 17 年 3 月



研究代表者 寺岡 慧

(東京女子医科大学腎臓病総合医療センター外科)



## 目次

緒言	1
研究組織	4
研究経費	4
研究成果報告	5
図表	10
研究発表リスト	31
(1) 論文発表	
(2) 学会発表	
関連論文	35

## 緒言

わが国の糖尿病患者数は、治療を受けている糖尿病患者数が約 700 万人、さらにその背景に約 1400 万人の糖尿病患者が存在すると推定されている。糖尿病患者においては糖尿病腎症、網膜症、神経障害、血管病変などの合併症が進行することが知られているが、糖尿病性腎症は進行性に増悪して慢性腎不全に至り、透析療法に導入される。新規透析導入患者の原疾患に占める糖尿病性腎症の頻度は年々増加しつつあり、1998 年度の統計では全導入患者の 37% に達し、慢性糸球体腎炎を抜いて新規透析導入患者の原疾患の 1 位となっている。その後も糖尿病性腎症から慢性腎不全に至り透析療法に導入される患者数は増加し続け、2003 年には新規透析導入患者約 33,000 人の内、約 13,000 人 (41%) が糖尿病性腎不全患者である。

糖尿病透析患者の Quality of Life (QOL) は、進行する糖尿病合併症、腎不全/透析合併症に加えて、生活・食事制限、透析治療による拘束などのためきわめて悪く、しかもその生存率は 5 年で 47.2% と不良である。欧米においても糖尿病性腎不全が増加しているが、これに対して膵腎複合移植が実施されており、その成績も年々向上し、症例数も増加しつつある。わが国においては 1984 年に脳死ドナーからの膵腎同時移植が実施され、1989 年末より研究代表者らが心停止ドナーから行った膵腎複合移植を含めて 1994 年末までに、総計 15 例の膵腎複合移植が実施されている。その内研究代表者らが実施した 11 例中 8 例において移植膵機能の発現が得られ、その内 6 例において長期生着が得られている。

3 症例において移植膵機能の発現が得られなかった主たる原因は、primary non-function、移植膵の血栓/壊死などであり、血栓の発生機序は移植膵の 1-hour biopsy の所見から、虚血再灌流傷害による移植膵の血管内皮傷害が毛細血管内の赤血球の rouleau 現象を惹起し、それによる移植膵微小循環障害から微小血栓形成に至り、さらに移植膵壊死に進展したものと推察された。しかし一方で、より厳格なドナー適応基準を満たし、心停止直後より UW solution を用いて in situ perfusion を施行した後に摘出し得た膵は、移植直後より良好に機能し、長期生着が得られている。したがって移植膵の虚血再灌流傷害とそれによる微小循環障害をを阻止できれば更なる成績の向上が期待しうるものと考えられる。

1997 年、臓器の移植に関する法律が制定されわが国においても脳死体からの臓器提供が可能となったが、わが国においては脳死ドナーの死戦期が長いことため一定程度の膵の虚血は避けられず、欧米のそれと比較して脳死体からの移植膵の良好な viability は期待し得ないと考えられる。さらに脳死体からの臓器提供は極めて制限され、今後脳死下での膵臓提供を推進すると同時に、心停止ドナーからの膵

移植も並行して継続して行かざるをえず、今後いかにして虚血に陥った移植臓の良好な *viability* を維持するか、さらには虚血再灌流傷害による微小循環障害を防止するかが臓移植の成績向上の鍵となると考えられる。さらには移植臓器の *viability* の評価法の開発が、わが国における臓移植のみならず他の臓器移植においても不可欠であろう。

虚血臓の虚血再灌流傷害による微小循環障害の機序については、①虚血による外分泌腺の細胞浮腫のための機械的圧迫によって生じる毛細血管の狭小化、②虚血および虚血再灌流傷害による内皮傷害、③虚血再灌流時における赤血球変形能、通過能の低下、集合化などによる血液レオロジーの変化などがその因子としてあげられるが、これらには細胞内 ATP の枯渇による Na-K ATP-ase の低下、superoxide ( $O_2\cdot$ )、nitric oxide ( $NO\cdot$ )、peroxynitrite radical ( $ONOO\cdot$ )、hydroxyl radical ( $OH\cdot$ ) などの活性酸素種 (ROS)、白血球粘着、血小板粘着、各種サイトカイン、ケモカイン、エイコサノイド、PAF、凝固因子、補体などの活性化、赤血球脂質膜の組成の変化と流動性の低下、糖鎖の減少、膜荷電の変化、膜骨格蛋白およびヘモグロビンの酸化的修飾などが関与しているものと推定される。

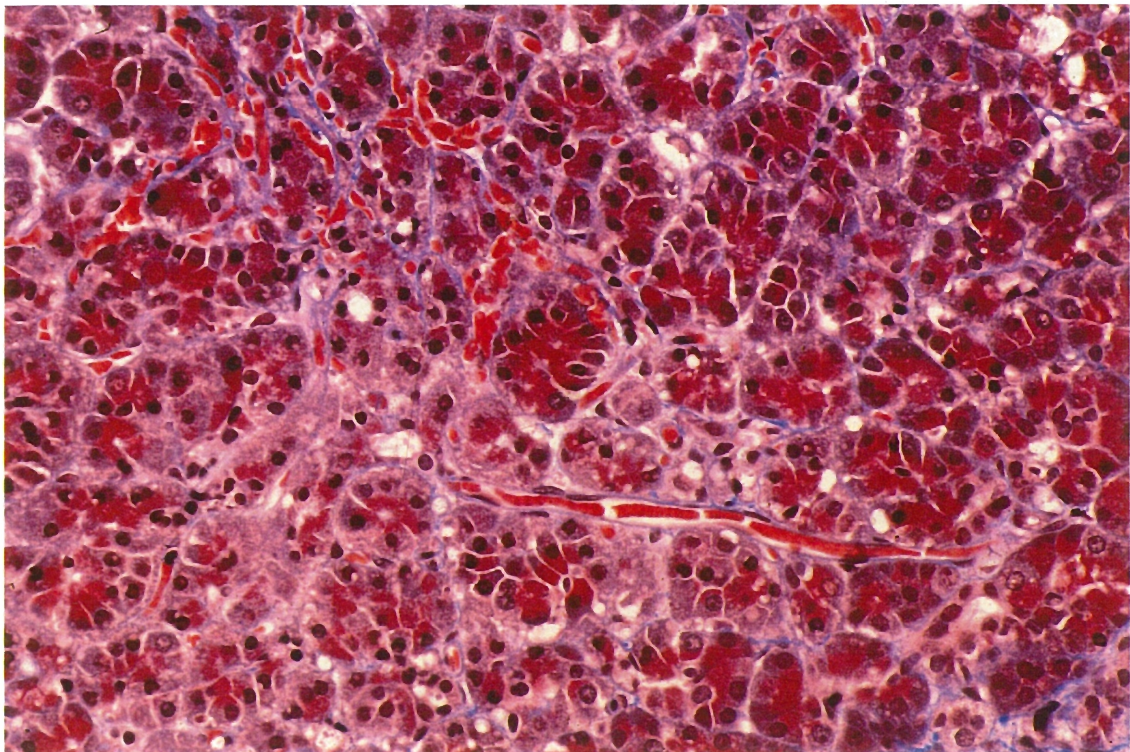
本研究においては、虚血臓の虚血再灌流傷害による微小循環障害の機序について、赤血球の *rouleau* 現象による微小循環障害の観点から検討するものであり、とくに赤血球の *rouleau* 現象の発生機序として、赤血球の変形能、通過能、膜荷電などの変化を赤血球表面の脂質 2 重膜の脂質組成の解析、糖蛋白およびその糖鎖の解析、赤血球膜骨格蛋白の生化学的・構造生物学的解析から検討したものである。

臓の虚血傷害について臓外分泌細胞の自己融解の面から検討した研究は見受けられるが、臓の細胞内エネルギー代謝、虚血再灌流傷害、および活性酸素と臓の関係について検討した研究はほとんど見あたらない。さらに赤血球変形能、通過能、膜荷電などの変化、赤血球表面の脂質 2 重膜の脂質組成の解析、糖蛋白およびその糖鎖の解析、赤血球膜骨格蛋白の生化学的・構造生物学的解析の観点から虚血臓の微小循環障害について検討した研究は皆無に等しい。臓は元来血流の少ない臓器であり、*free radical* の発生、赤血球の *rouleau* 現象、内皮傷害に起因する微小循環障害などが臓実質細胞傷害を惹起し、さらなる悪循環を招来するものと考えられる。この機序の詳細が解明され、その防止法が開発されれば、臓移植のみならず壊死性臓炎の発生機序ならびに治療にとっても多大な貢献が期待しうる。また臓臓以外の臓器における微小循環障害の発生機序の解明にも寄与しうるものと考えられる。

以上より、本研究においては虚血臓の虚血再灌流傷害による微小循環障害の機序について、赤血球の *rouleau* 現象による微小循環障害の観点から検討するものであり、とくに赤血球の *rouleau* 現象の発生機序として、赤血球の変形能、通過能、

膜荷電などの変化を赤血球表面の脂質 2 重膜の脂質組成の解析、糖蛋白およびその糖鎖の解析、赤血球膜骨格蛋白の生化学的・構造生物学的解析から検討したものである。

下図：移植後血栓を起こした移植臓の 1 hour biopsy（血流再開後 1 時間後の生検）の組織所見：血流再開後 1 時間ですでに移植臓毛細血管内に赤血球の著明な凝集、連鎖形成（rouleau formation）が認められ、これによる微小循環障害から移植臓血管全体の血栓に至ったと考えられる。



## 研究組織

研究代表者：寺岡 慧（東京女子医科大学医学部腎臓病総合医療センター外科）

研究分担者：高桑雄一（東京女子医科大学医学部生化学教室）

研究分担者：岩本安彦（東京女子医科大学糖尿病センター第3内科学教室）

研究分担者：馬場園哲也（東京女子医科大学糖尿病センター第3内科学教室）

研究分担者：早坂勇太郎（東京女子医科大学医学部腎臓病総合医療センター外科）

研究協力者：中島一朗（東京女子医科大学医学部腎臓病総合医療センター外科）

## 研究経費

平成 12 年度 5000 千円

平成 13 年度 4400 千円

平成 14 年度 4300 千円

総 計 13700 千円

## 研究成果報告

脾虚血、虚血再灌流傷害と微小循環障害の機序について、赤血球脂質膜および膜骨格蛋白の構造解析、赤血球連鎖形成、変形能、通過能、膜荷電の面から検討し、以下の知見を得た。

### 1. Ektacytometer 法による赤血球、赤血球膜の変形能、膜安定性の検討

A 群（健常対照群）、B 群（非糖尿病透析患者）、C 群（非腎不全糖尿病患者）、D 群（糖尿病透析患者）から得られた血液（全血）、洗浄赤血球（RBC）および Red Ghosts（RGs）を用いて、Ektacytometer を用いたレーザー回折法により、全血、RBC および RGs の変形指数（deformability index : DI）を測定し、4 群間において比較検討を行った。図 1 に RGs の作製法を示す。

(1)赤血球、赤血球膜の変形能の検討：全血では B 群の DI は A 群と同等であったが、C 群および D 群では低下する傾向を示した（図 2）。RBC の DI についても B 群は A 群とほぼ同等であり、C 群、D 群では低下する傾向にあった（図 3）。また DI の最大値である Dimax は C 群、D 群では低下する傾向を示した。しかし RGs の DI については 4 群間で差は認められなかった（図 4）。

(2)赤血球膜の酸化的修飾による変形能、膜安定性の検討：虚血再灌流時には種々の reactive oxygen species (ROS) が発生し、これにより赤血球膜脂質過酸化、膜骨格蛋白およびヘモグロビンの酸化的修飾が起こると推定される。本実験では、これら赤血球の構成成分の酸化的修飾が、赤血球の変形能および集合化に影響を与え、rouleau 現象を促進するという作業仮説の検証を試みた。

赤血球をフェニルヒドラジンで酸化して Ektacytometer を用いたレーザー回折法により変形能、膜安定性を検討したが、赤血球膜の酸化により赤血球の変形能は低下した。また RGs 内に酸化ヘモグロビンを封入すると変形能の低下と膜安定性の亢進が認められた。

膜安定性は一定の shear stress を加えた場合の RGs の断片化（ちぎれやすさ）をみたものであり、赤血球脂質膜を裏打ちする膜骨格蛋白ネットワークの性状（強度）を反映すると考えられている。したがって赤血球のフェニルヒドラジン処理によって赤血球変形能が低下した事実は、赤血球脂質膜の酸化によりその変形能が低下することを示している。また酸化ヘモグロビンを封入した RGs の変形能が低下したことは、ヘモグロビンの酸化的修飾が赤血球脂質膜の流動性および膜骨格蛋白の伸縮性に何らかの影響を与えたことを示唆するものと考えられる。酸化ヘモグロビン封入 RGs の膜安定性が亢進していることは、脂質膜流動性および膜骨格蛋白の伸縮性は損なわれるが、膜骨格蛋白の強度自体は維持されることを示

唆しており、赤血球膜骨格蛋白間の相互作用が変化したことを意味するものと考えられる。

(3)赤血球膜の安定性の検討：赤血球の RGs に一定の shear stress ( $750\text{dyn/cm}^2$ ) をかけ断片化 (fragmentation)・小胞化 (vesiculation) を検討した。DI が 0.5 (50%) となる T50 は、A 群  $15.6\pm 2.3\text{sec}$ 、B 群  $20.25\pm 2.63\text{sec}$ 、C 群  $17.9\pm 4.02\text{sec}$ 、D 群  $16.25\pm 1.44\text{sec}$  であり、むしろ B、C 群で赤血球膜の安定性は増加する傾向が認められた (図 5、6)。

膜安定性は前項で述べたように、赤血球脂質膜を裏打ちする膜骨格蛋白ネットワークの性状 (強度) を反映すると考えられている。4 群間で赤血球膜骨格蛋白の強度には差は認められず、非糖尿病腎不全患者、非腎不全糖尿病患者においては、むしろその強度は増加する傾向が認められた。

## 2. 連続減衰負圧式ニッケルメッシュフィルトレーションによる赤血球通過能の検討

4 群間で、赤血球希釈溶液に  $-50\text{mmHg}$  までの連続減衰負圧をかけ、径  $4\mu\text{m}$  のニッケルメッシュに対する通過能を検討した。Flow Rate-Pressure 曲線は B、C、D 群では A 群と比較して右にシフトしており、通過能の低下が認められ、とくに D 群では通過能の低下が顕著であった (図 7、8)。

赤血球は毛細血管を通過する際に、パラシュート状に変形することが知られているが、糖尿病透析患者ではこの変形能が低下していることが示唆された。

## 3. 赤血球の膜骨格蛋白である 4.1 蛋白質の生化学的・構造生物学的解析

赤血球膜の構造は脂質 2 重層を基盤とした流動モザイクモデルで説明されるが、機能的には細胞膜を裏打ちしている膜骨格蛋白網目状ネットワークを加えた 3 重層構造と捉えるのが妥当と考えられている。この第 3 層を構成する膜骨格蛋白ネットワークは、膜骨格蛋白相互の水平方向の網目状ネットワークと、これらアンカー蛋白質を介して脂質 2 重層の膜貫通蛋白や脂質に連結する垂直方向の分子配列によって構築されている。水平方向の網目状のネットワークは、spectrin、actin、adducin、4.1 蛋白質などの表在性蛋白質によって構成され、電子顕微鏡では六角形格子 (hexagonal lattice) が集合した膜骨格の網目状構造として観察される。spectrin 四量体を網の一片として、actin、4.1 蛋白質、adducin からなる連結部複合体 (junctional complex) により相互に連結される (図 9)。

80kDa の赤血球型 4.1 蛋白質 ( $4.1R^{80}$ ) は spectrin、actin とともに赤血球膜骨格の網目状の水平構造を維持する膜骨格蛋白であり、band 3、glycophorin C、p55、spectrin などの種々の膜蛋白質や調節蛋白質 (calmodulin/ $\text{Ca}^{++}$ ) と結合する (図 10)。



4.1 蛋白質をキモトリプシンで限定分解すると4つの領域に分かれるが、N末端側の30kDaドメインは膜貫通蛋白 (band 3, glycophorin C など) が結合するため膜結合ドメインと呼ばれる。精製および組換え蛋白質を用いた検討により、calmodulin/Ca<sup>2+</sup>の4.1蛋白質への結合により、これらの分子間相互作用が調節されることが明かとなり、結合ドメイン (N末端 30Kda) の結晶解析から結合部位が同定された。すなわち4.1蛋白質はcalmodulin/Ca<sup>2+</sup>との結合により、N末端30kDaドメインを介して phosphatidylserine (PS) に寄り添うことに引き続き、脂質膜内に挿入され、赤血球膜リン脂質の脂肪酸と疎水性に結合することが判明した。

#### 4. SDS-PAGE による赤血球膜骨格蛋白の検討

上記の4群から得られた赤血球から細胞質の蛋白を除去したRGs膜蛋白質をSDS-PAGE法 (Laemmli系、7.5%) により分離し、クマシーブリリアントブルー (CBB) で染色して、赤血球膜骨格蛋白の泳動パターンを検討したが、spectrin、Band 3などの膜骨格蛋白については4群間に差は認められなかった (図11)。

#### 5. 赤血球の形態学的検討

4群の赤血球についてGiemsa染色により形態観察を行った結果、B、D群の一部にanisocytosis (大小不同) が認められたが、顕著な差は認められなかった (図12)。

#### 6. 赤血球膜脂質組成の検討

赤血球脂質2重膜においては、phosphatidylcholine (PC) や sphingomyelin などのコリンリン脂質は外層に、phosphatidylserine (PS) や phosphatidylethanolamine (PE) などのアミノリン脂質は細胞質側の脂質層 (内層) に局在しており、これにより脂質2重層の非対称性 (Asymmetry) が維持されている。このリン脂質の不均衡分布は、外層のアミノリン脂質を内層に転送するATP依存性 aminophospholipid translocase (APLT)、内層のリン脂質を外層へ転送するATP依存性 floppase の活性により維持されている。赤血球膜への酸化的ストレスによりPS、PEは膜表面に露出するとされているが、PSと結合するFITC標識Annexin-Vを用いたフローサイトメトリーによりPSの脂質2重膜外層への移行について検討した。

対象は健常対照7名、慢性腎不全患者10名、糖尿病患者4名で、2ml採血してEDTA入り試験管に注入し、binding bufferにて赤血球数が $1 \times 10^6$  cells/mlとなるよう調整後、別のculture tubeに100  $\mu$ l分注して5  $\mu$ lのFITC標識Annexin-Vと混和して、暗所、室温にて15分間反応させた。binding bufferを400  $\mu$ l滴下してFlow cytometryで測定、ドットプロット法による陽性細胞率 (%) を比較した。陽性細

胞率は健常対照者  $0.13 \pm 0.04$  (mean  $\pm$  SE)、慢性腎不全患者  $0.18 \pm 0.03$ 、糖尿病患者  $0.40 \pm 0.09$  であり、糖尿病患者、慢性腎不全患者、健常対照者の順に PS の赤血球脂質 2 重膜外層への移行は顕著であった。糖尿病患者ではより PS の脂質 2 重膜外層への移行が顕著であり、PS の脂質 2 重膜外層への移行は有核細胞がアポトーシスに陥る際に顕著に認められる所見であり、糖尿病患者における赤血球膜脂質 2 重層外層への PS の移行は、糖尿病患者の赤血球がより細胞死に陥りやすいことを示唆している。

また膜骨格蛋白ネットワークを構成する 4.1 タンパク質は、calmodulin/ $Ca^{++}$ との結合により N 末端 30kDa ドメインを介して PS に近接することに引き続き、脂質膜内に挿入され、赤血球リン脂質膜の脂肪酸と疎水性に結合することが明らかにされたが、PS の脂質 2 重膜外層への移行により、脂質 2 重膜内層と膜骨格蛋白ネットワークとの相互作用に何らかの変化が生じることが、赤血球変形能の低下の一因である可能性が示唆されたものと考えられる。

## 7. 赤血球膜荷電の検討

(1)陽および陰イオン交換樹脂による赤血球吸着性の検討：4 群における赤血球の膜荷電を、陽および陰イオン吸着樹脂に対する吸着性により検討した。赤血球の吸着性における各群間の差は認められなかった。

(2)赤血球膜表面のシアル酸量減少・glycophorin 欠失による陰性荷電の減少と赤血球集合化：赤血球は膜表面に存在する糖蛋白 (glycophorin 等) 側鎖のシアル酸の陰性荷電により静電的に相互に反発しあっているが、シアル酸量の減少および glycophorin の欠失により、赤血球膜陰性荷電が減少し、相互の静電反発力が減少して集合しやすくなる。

endo- $\beta$ -galactosidase 処理によりほぼ完全に赤血球膜表面の糖鎖を除去すると、脂質面が露出し、本来集合しない赤血球相互の集合化 (aggregation) が認められた。さらに赤血球膜表面の糖鎖に特異的に結合する様々なレクチン処理を行った後に、レーザー回折法を用いて変形能を検討したところ、赤血球の変形能の低下が観察された。以上の結果は、赤血球膜の表面荷電を担う糖鎖が赤血球の rouleau 現象に関与する可能性を示唆するものと考えられる。

## 結論

1. 糖尿病透析患者では赤血球の変形能、通過能が低下しているが、膜安定性は維持されている。
2. 糖尿病患者においては赤血球脂質 2 重膜内層に局在する phosphatidylserine が顕著に外層に移行している。

3. 健常対照群、非糖尿病透析群、非腎不全糖尿病群、糖尿病透析群において、赤血球の形態学的相違は認められなかった。また膜骨格蛋白の泳動パターンに差は認められなかった。
4. 上記 4 群において赤血球膜の陰性荷電の差は認められなかった。
5. 上記 4 群における赤血球膜の安定性は、むしろ非糖尿病透析群、非腎不全糖尿病群で増加する傾向にあった。
6. 赤血球をフェニルヒドラジンで酸化すると、赤血球の変形能は低下した。また酸化ヘモグロビン封入 Red Ghosts では変形能は低下したが、膜安定性は亢進した。
7. endo- $\beta$ -galactosidase 処理による赤血球膜上糖鎖の除去、糖鎖に特異的に結合するレクチン処理により、膜表面の陰性荷電を減少させると赤血球の変形能は低下し、赤血球の集合化が認められた。
8. 4.1 蛋白質は calmodulin/ $\text{Ca}^{++}$ との結合により、N 末端 30kDa ドメインを介して phosphatidylserine に近接することに引き続き、脂質膜内に挿入され、赤血球リン脂質の脂肪酸と疎水性に結合することが明かとなった。

以上より腎臓複合移植の対象となる糖尿病透析患者では、赤血球の変形能および通過能は低下しており、さらに脂質膜外層へのPSの表出が認められ、赤血球膜表面の糖鎖の減少ないし欠失により赤血球相互の集合が観察された。また酸化的ストレスにより変形能は低下し、赤血球膜骨格蛋白質の相互作用が変化することが示唆された。

Fig.1 〈赤血球、Red Ghostsの作成方法〉

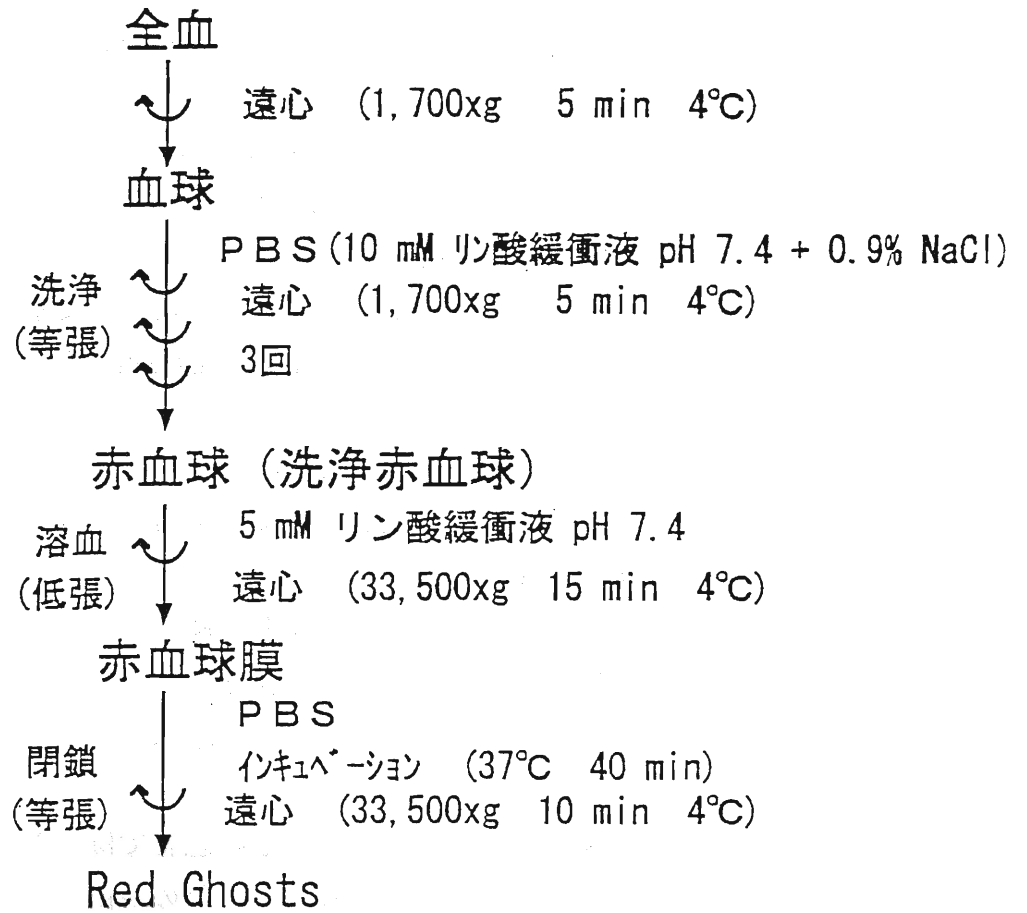


Fig.2 变形能 (全血)

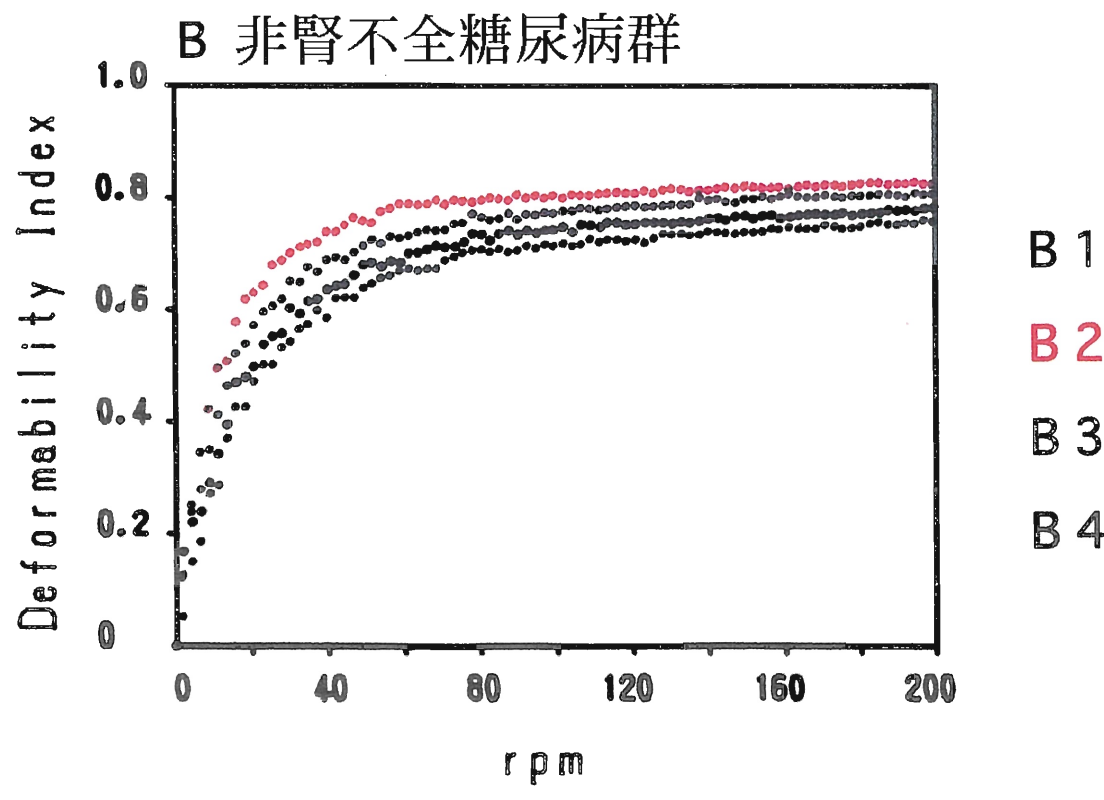
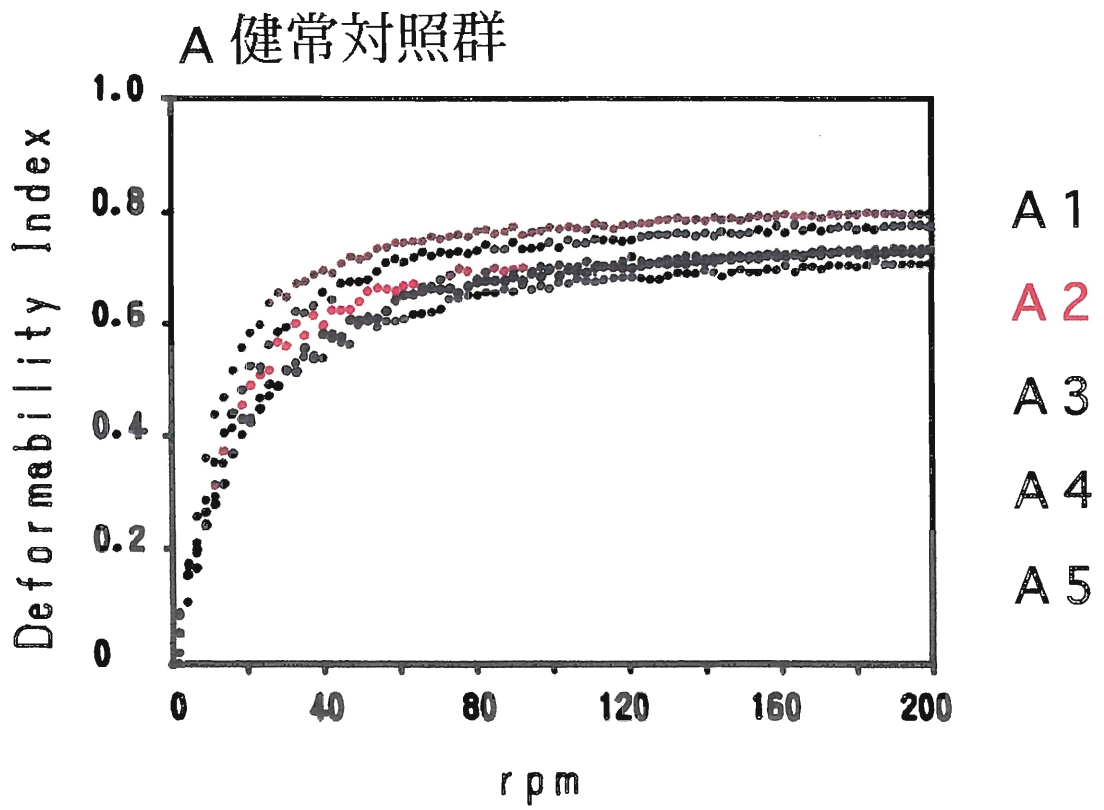


Fig.2 変形能 (全血)

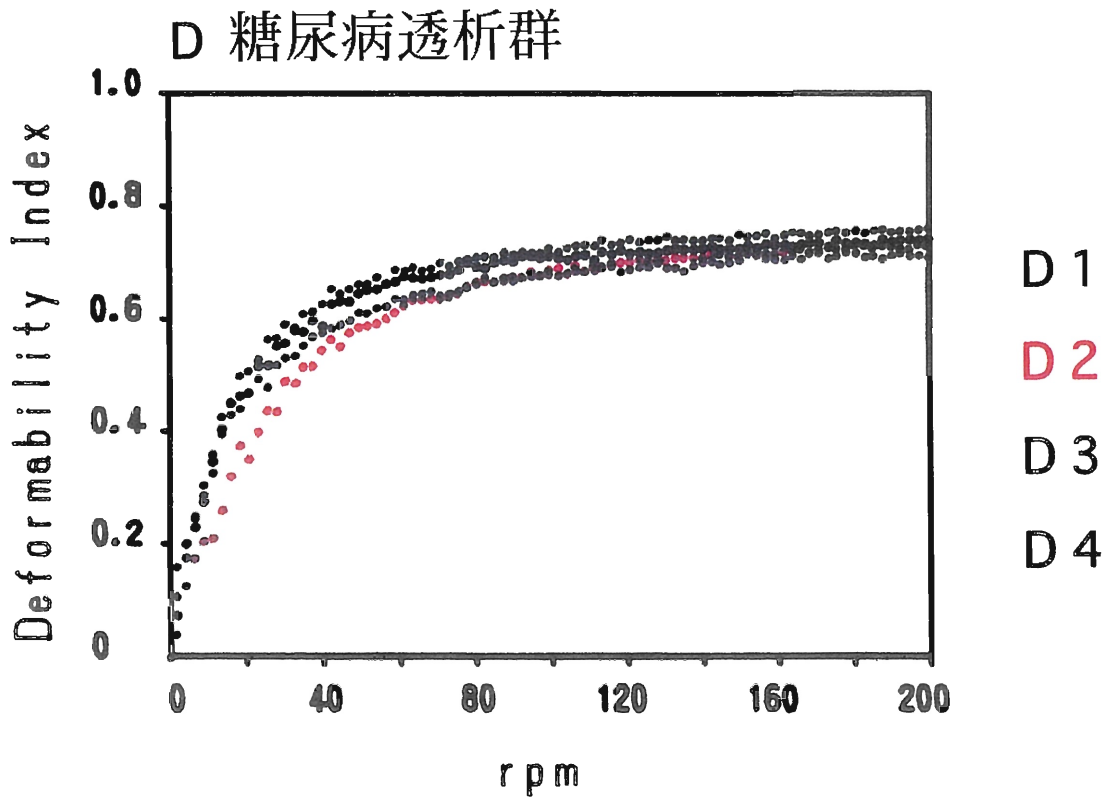
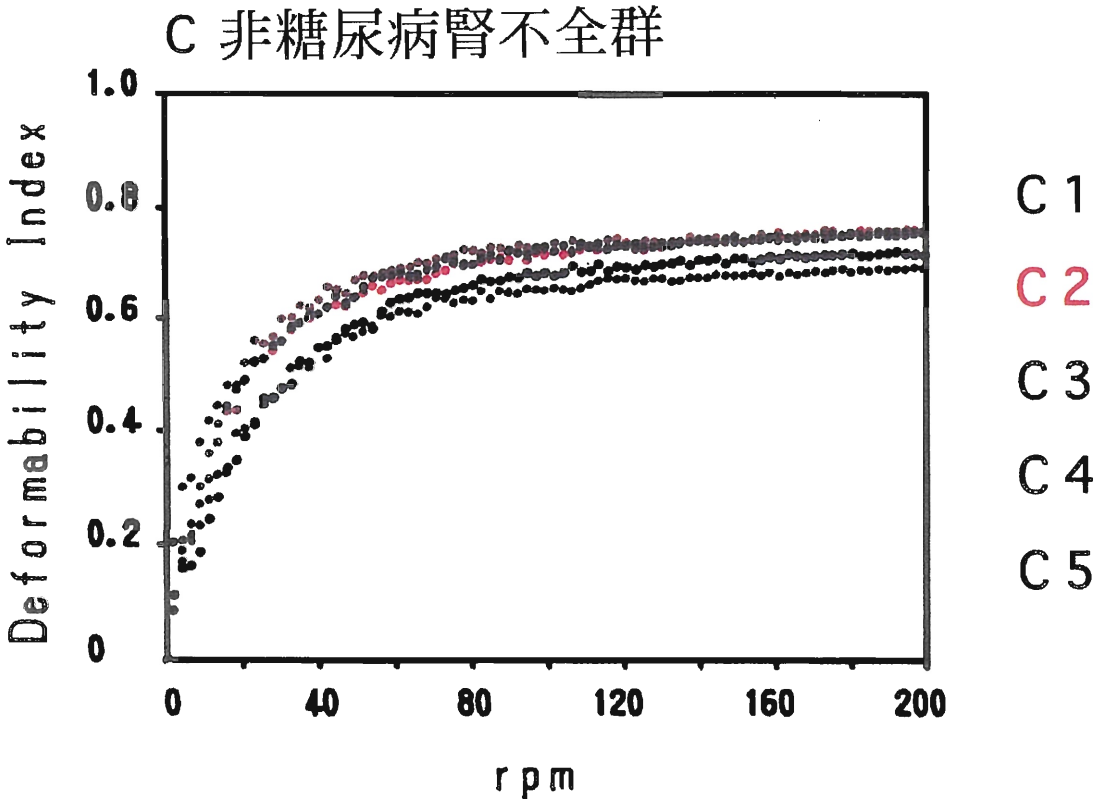


Fig.3 变形能 ( 赤血球 )

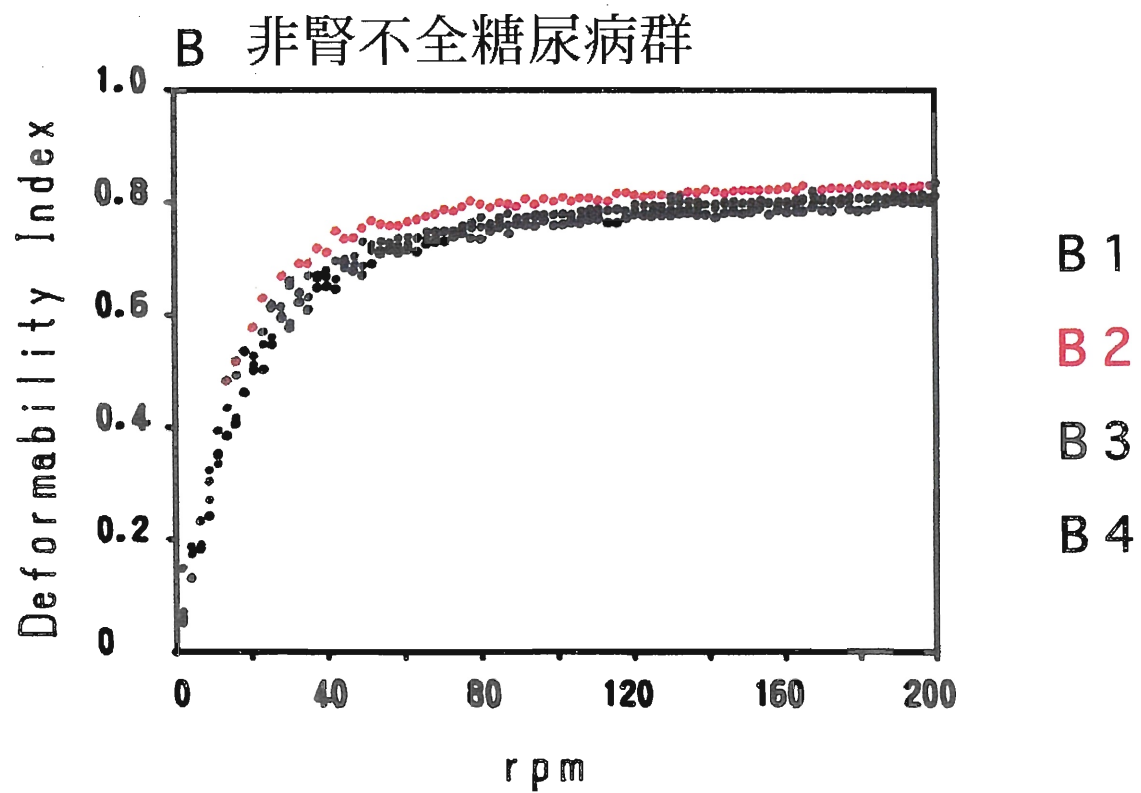
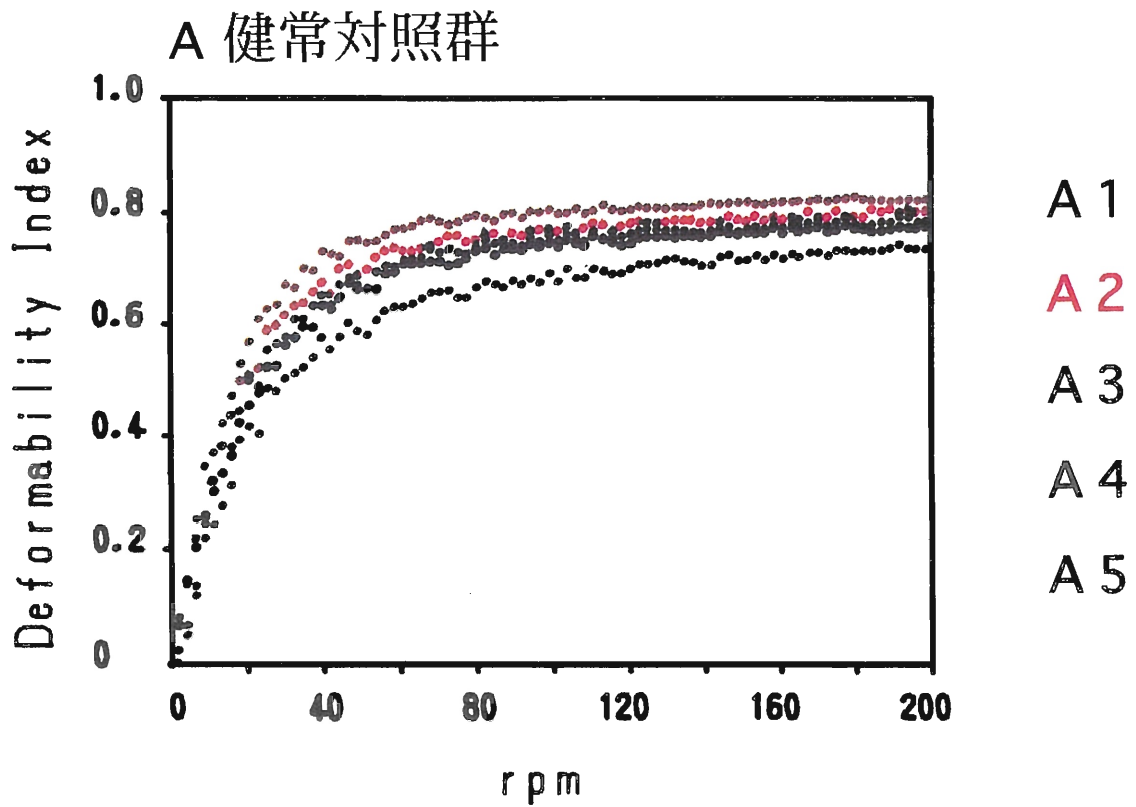


Fig.3 变形能 ( 赤血球 )

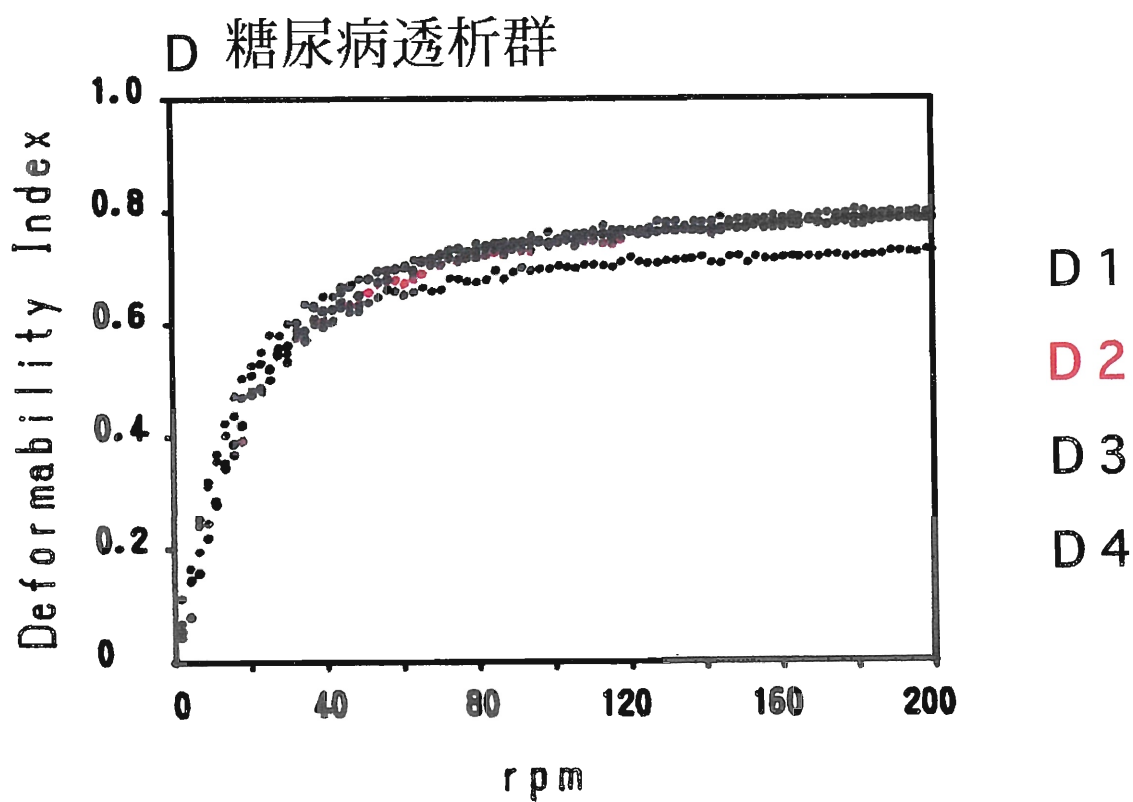
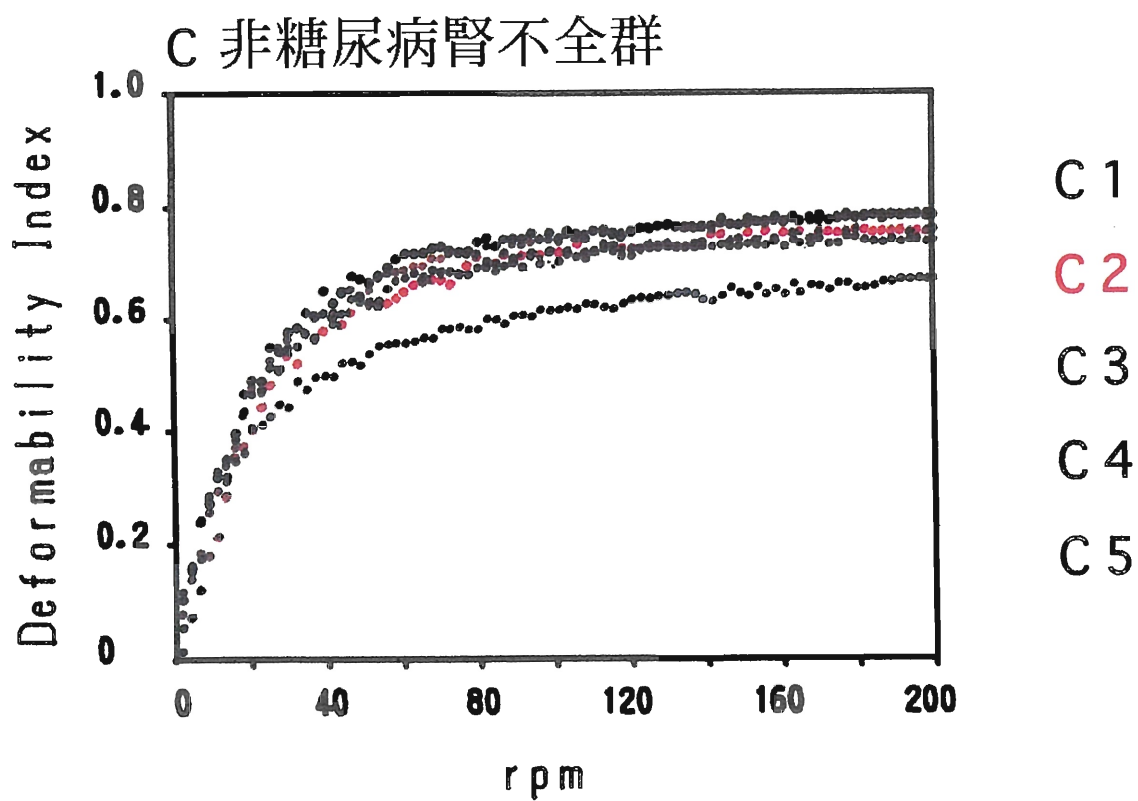
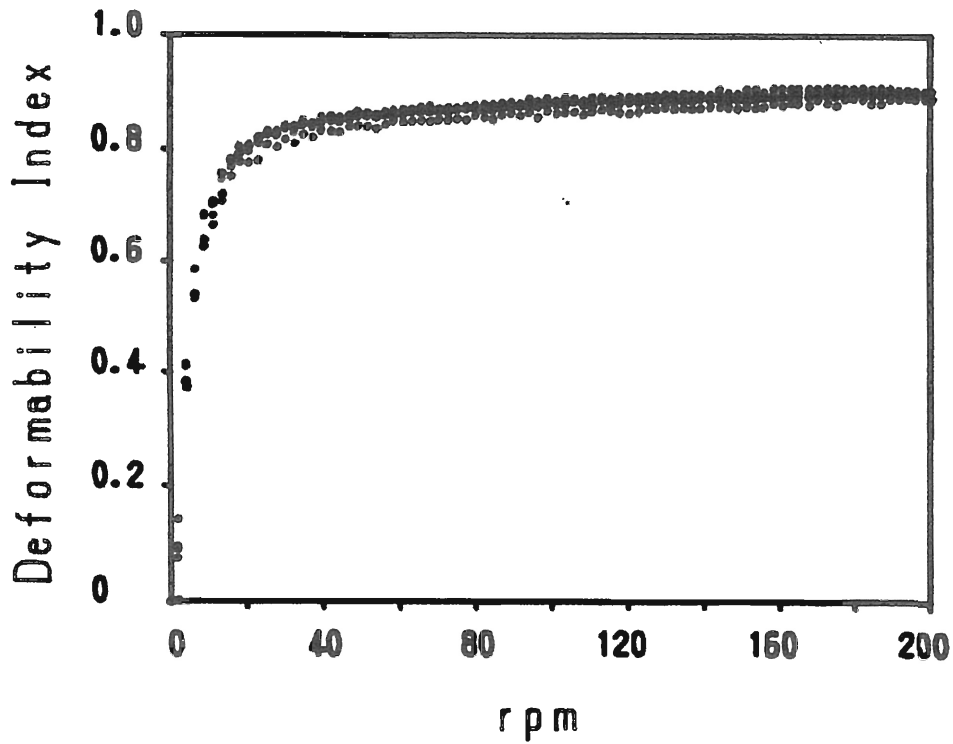




Fig.4 膜变形能 ( Red Ghosts )

A 健常对照群



A 1

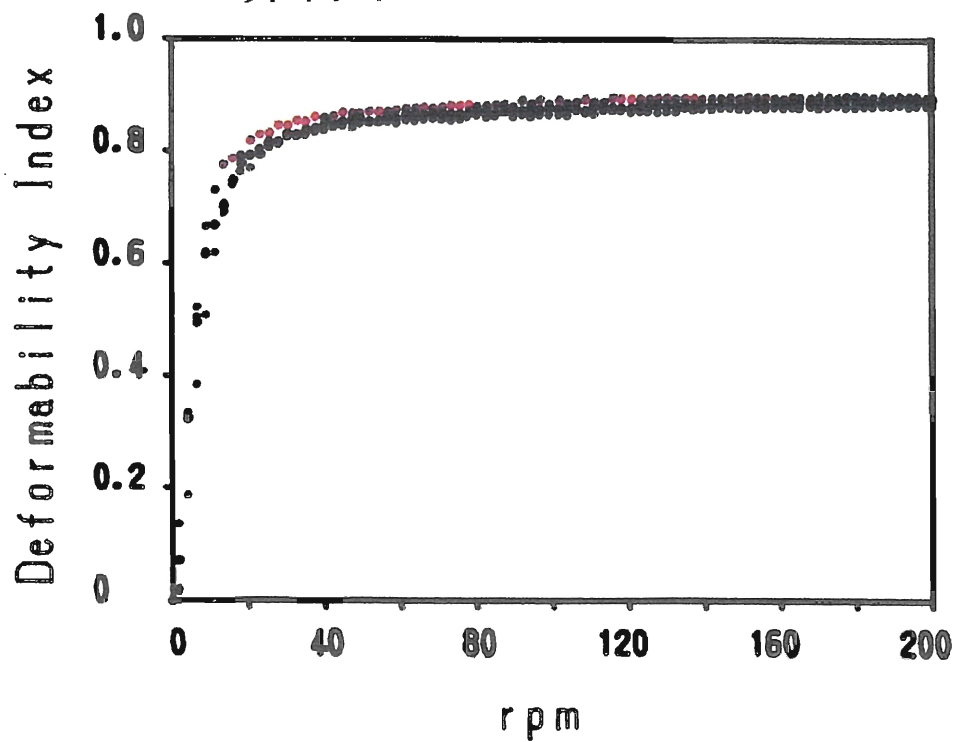
A 2

A 3

A 4

A 5

B 非腎不全糖尿病群



B 1

B 2

B 3

B 4

Fig.4 膜变形能 ( Red Ghosts )

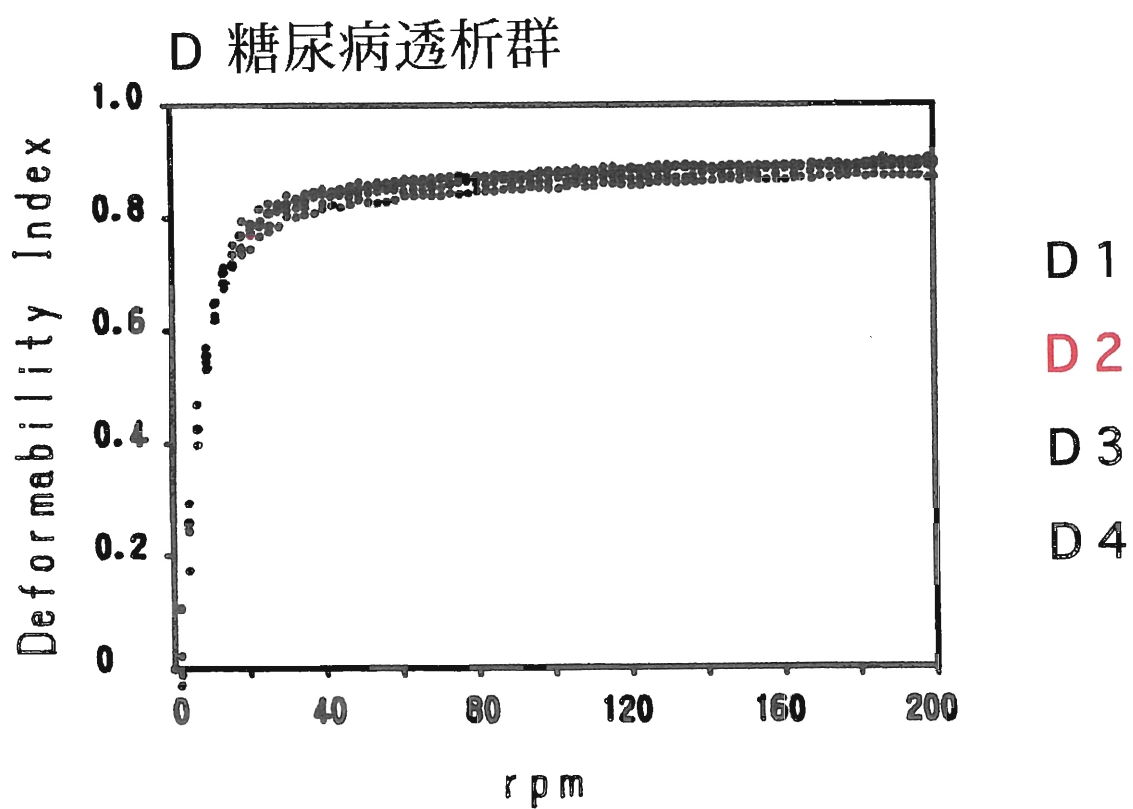
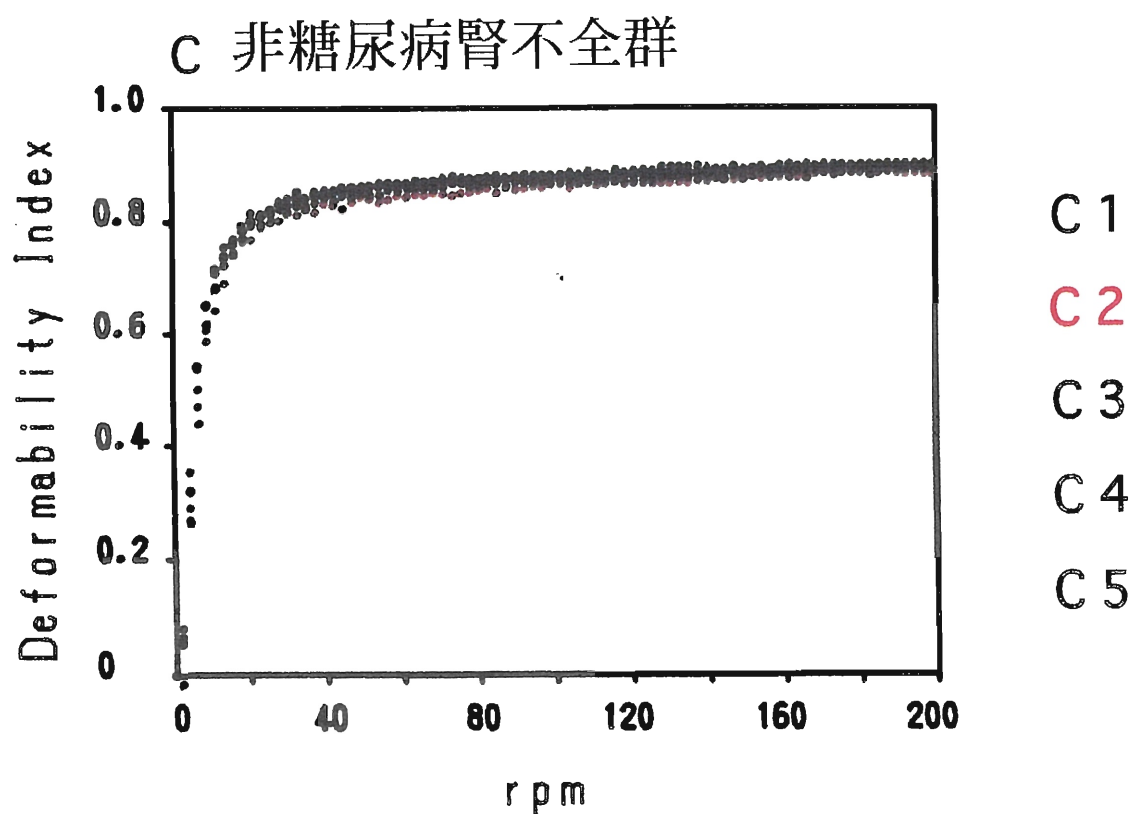


Fig.5 膜安定性 ( Red Ghosts )

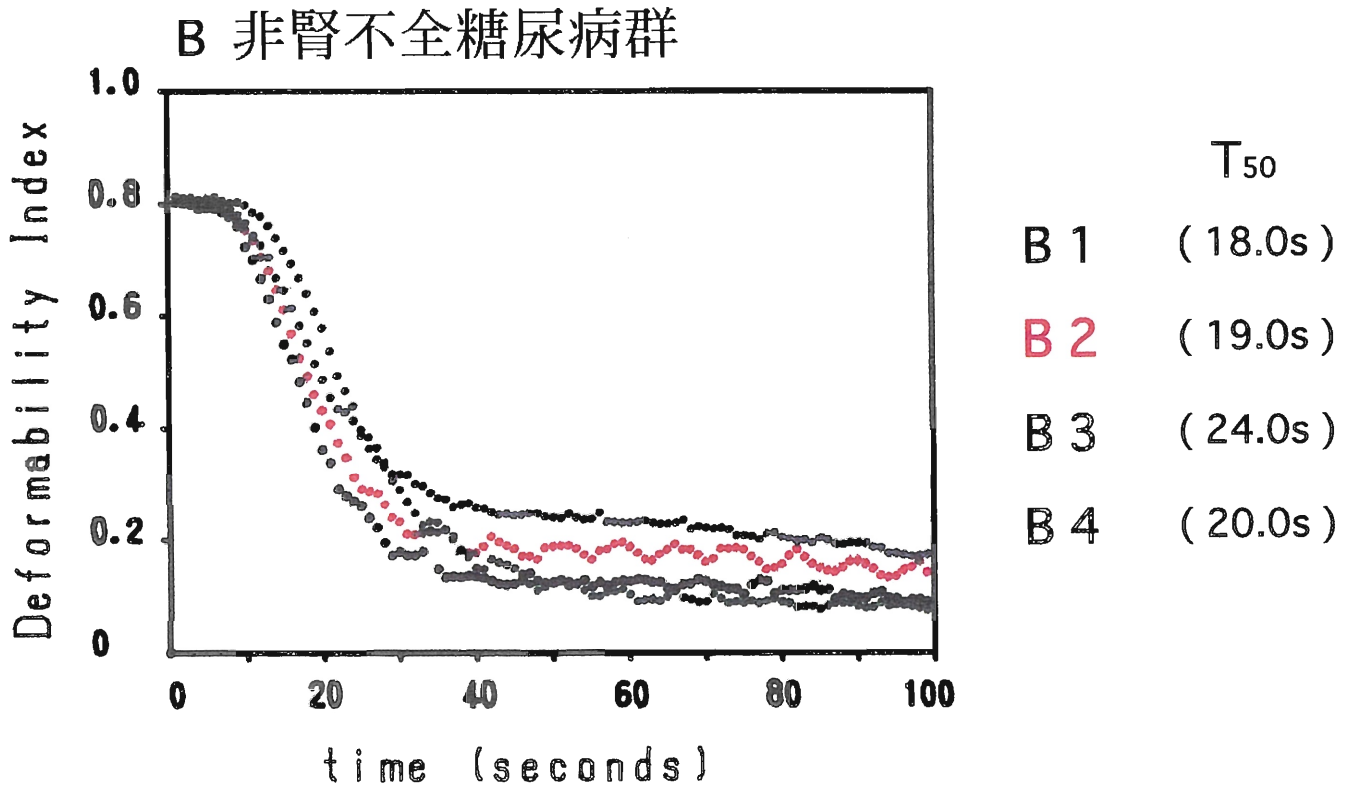
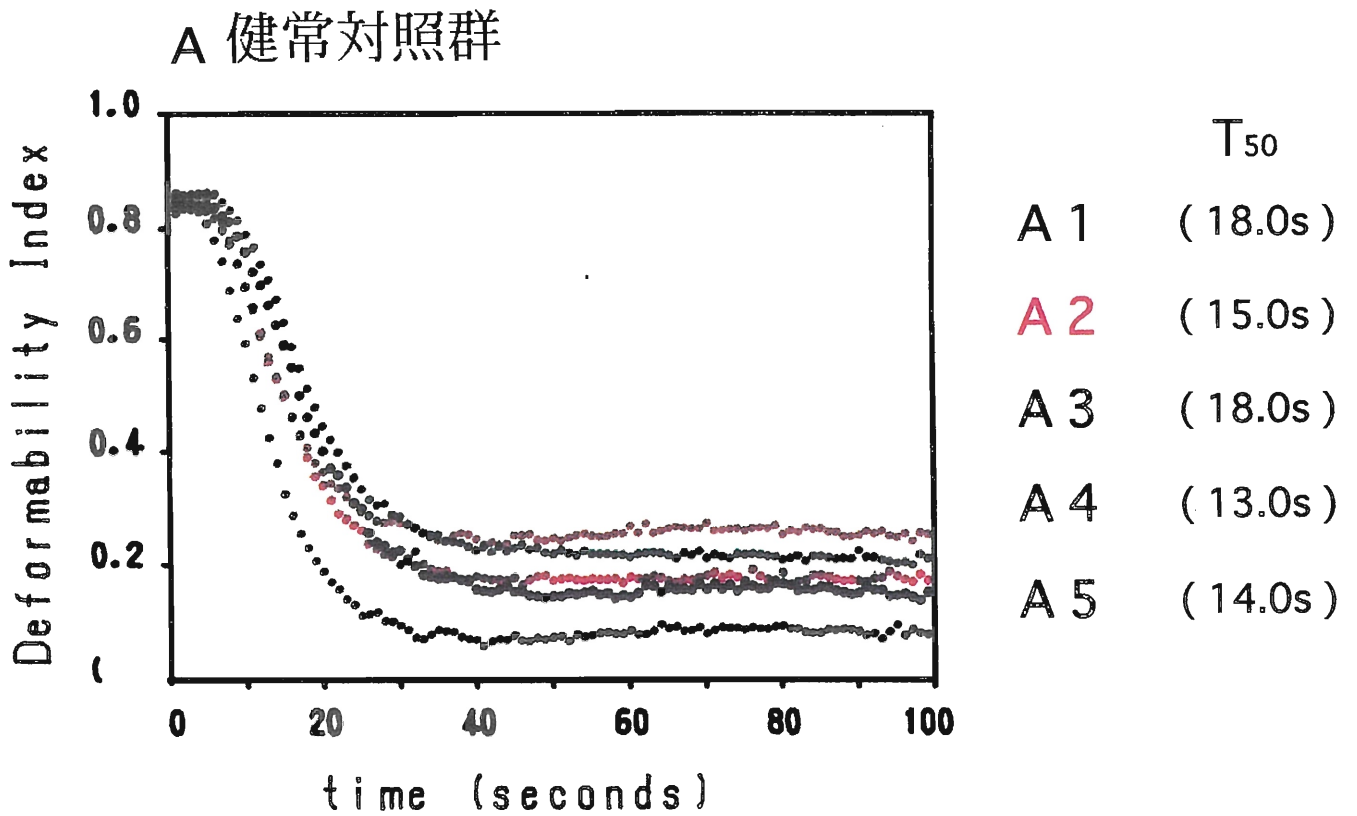


Fig.5 膜安定性 ( Red Ghosts )

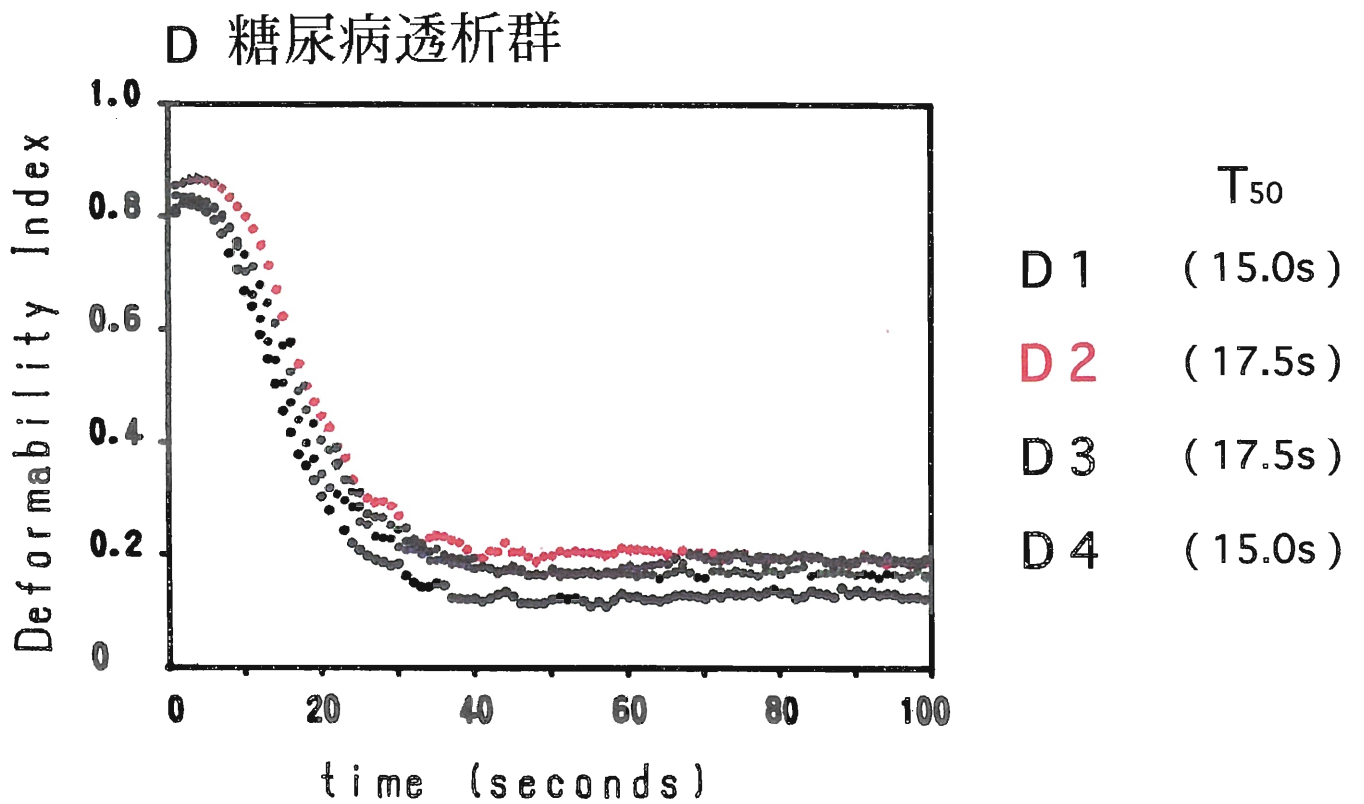
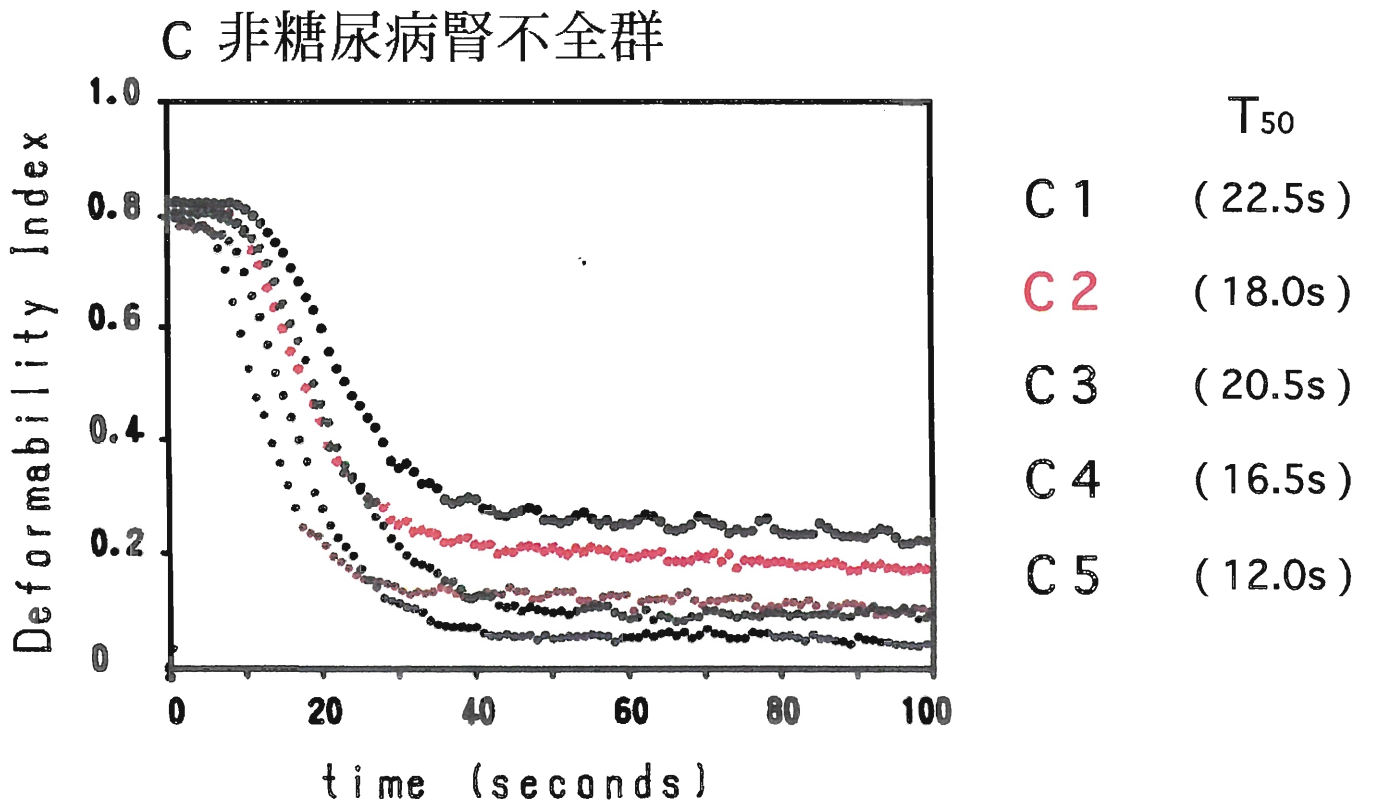


Fig.6 膜安定性 (Red Ghosts)

T<sub>50</sub> プロット

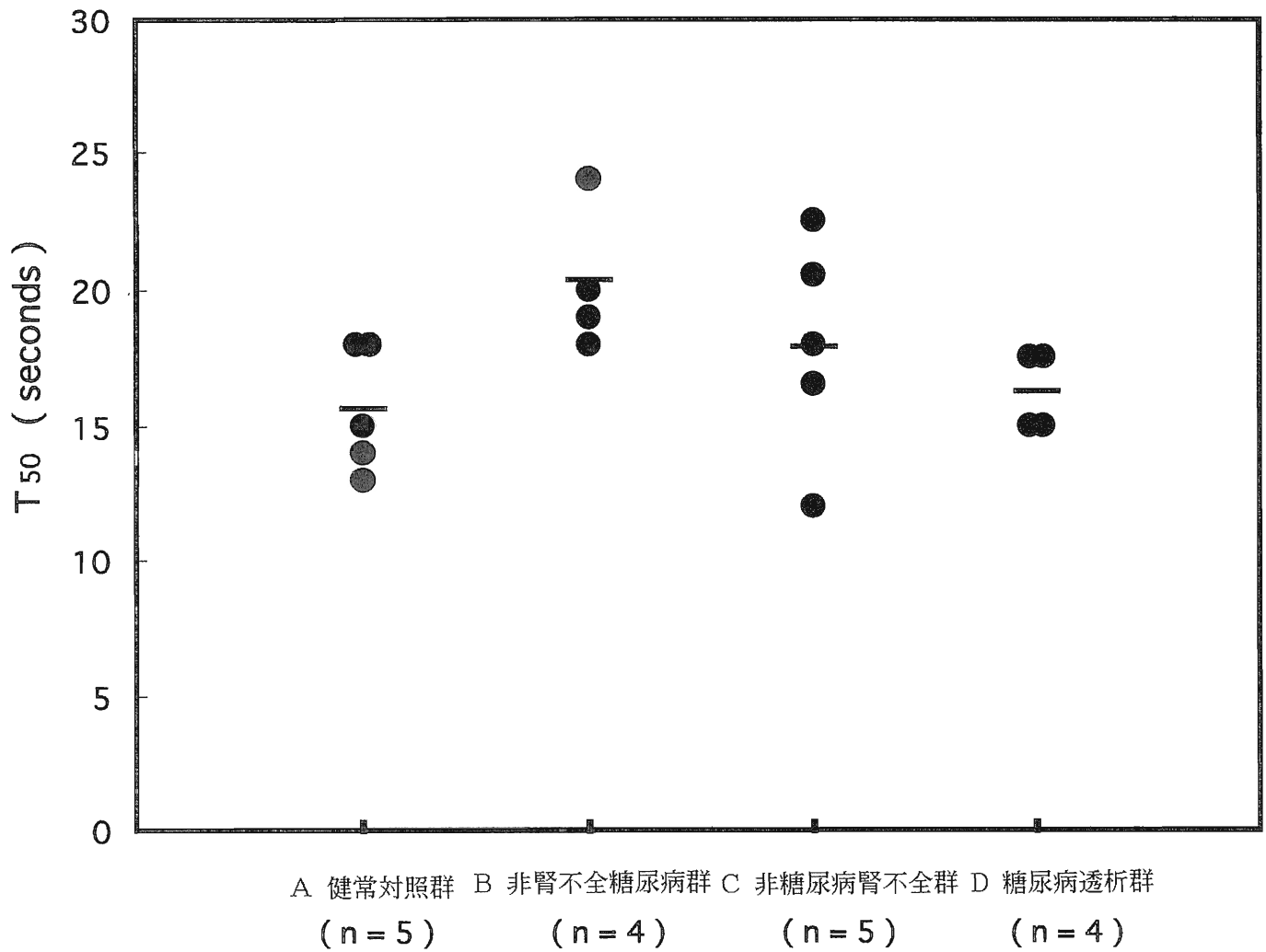
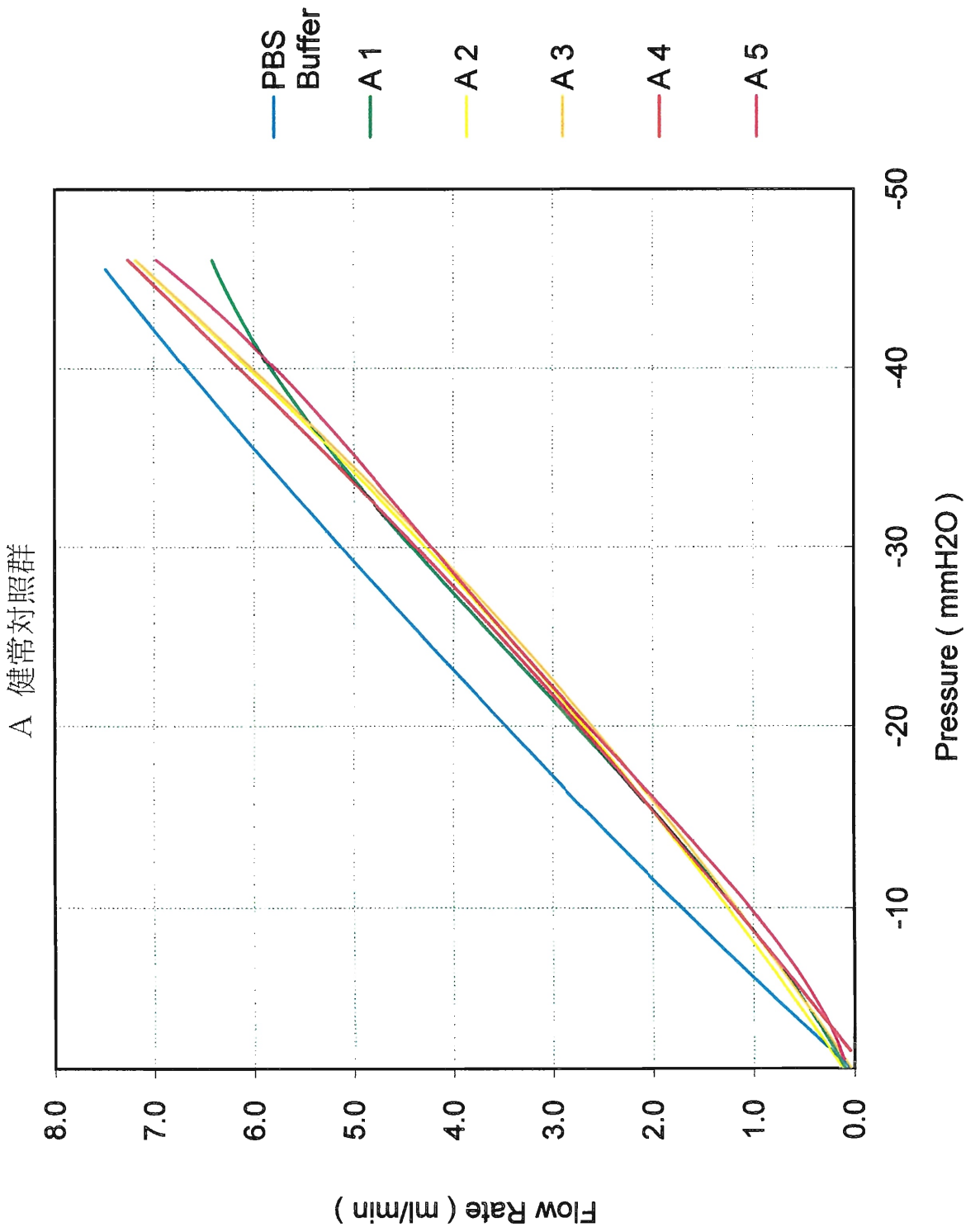
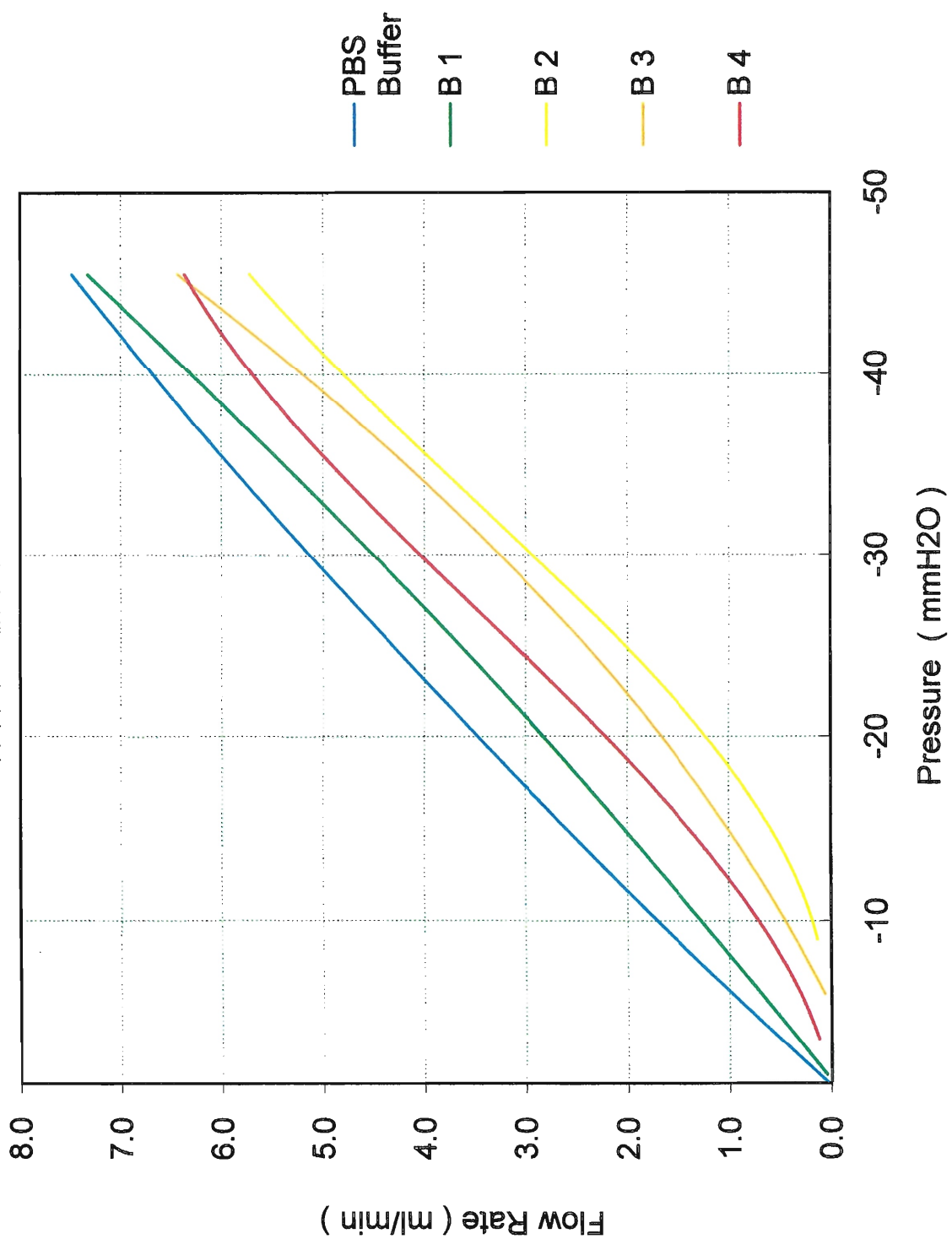


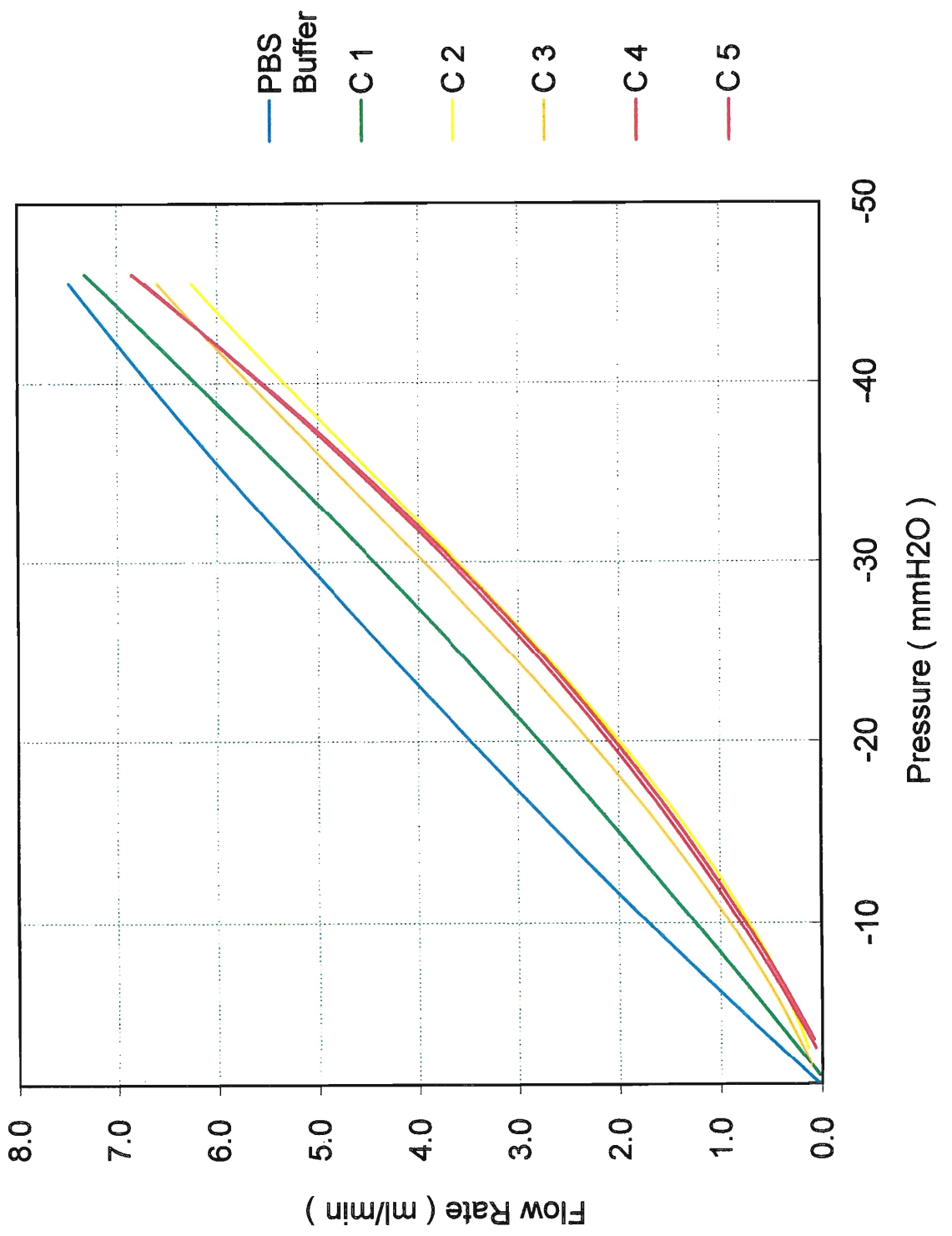
Fig.7 通過能 ( RBC )



B 非腎不全糖尿病群



C 非糖尿病腎不全群





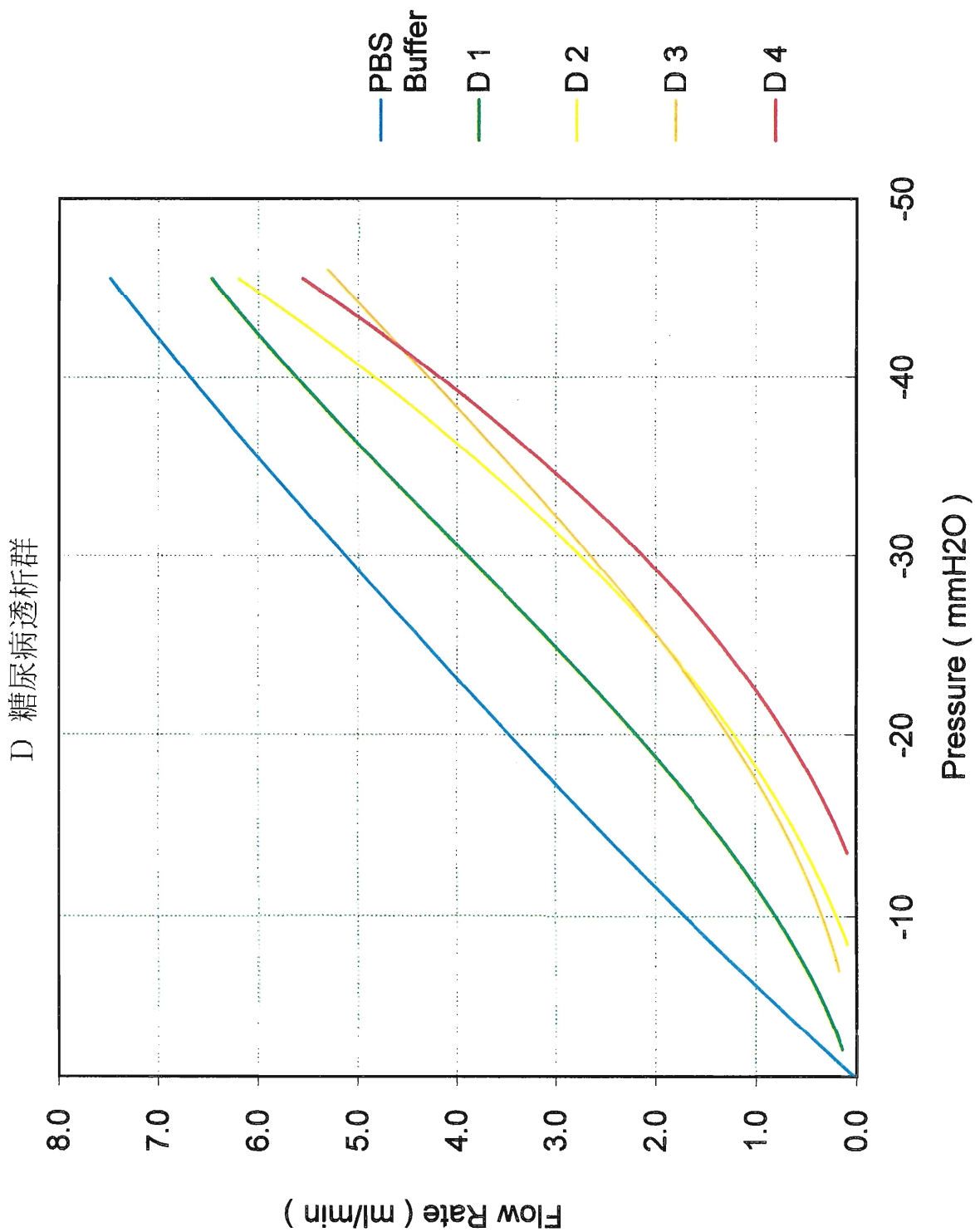
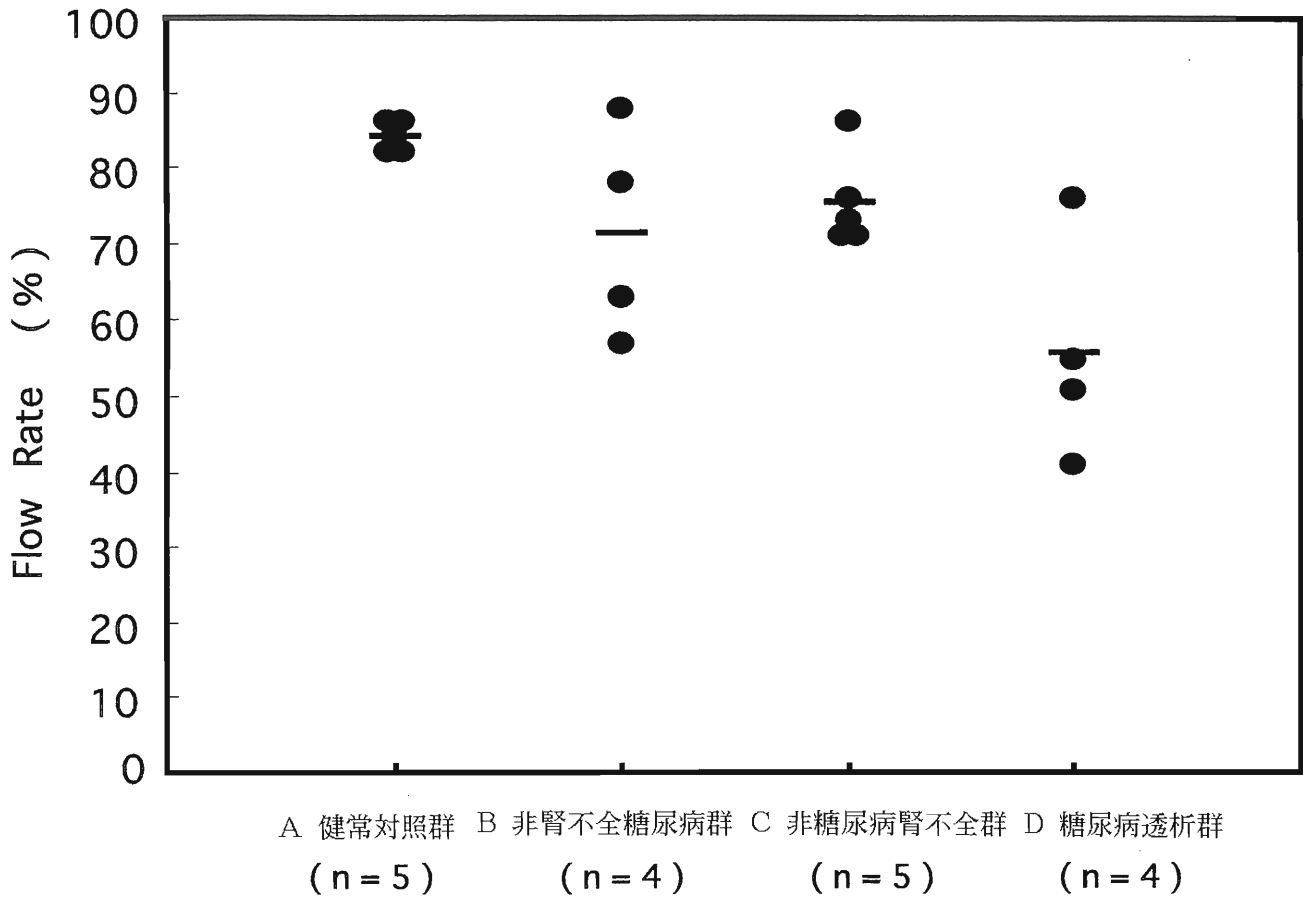


Fig.8 通過能 (RBC)

PBS Buffer に対する割合 (-30 mmH<sub>2</sub>O)



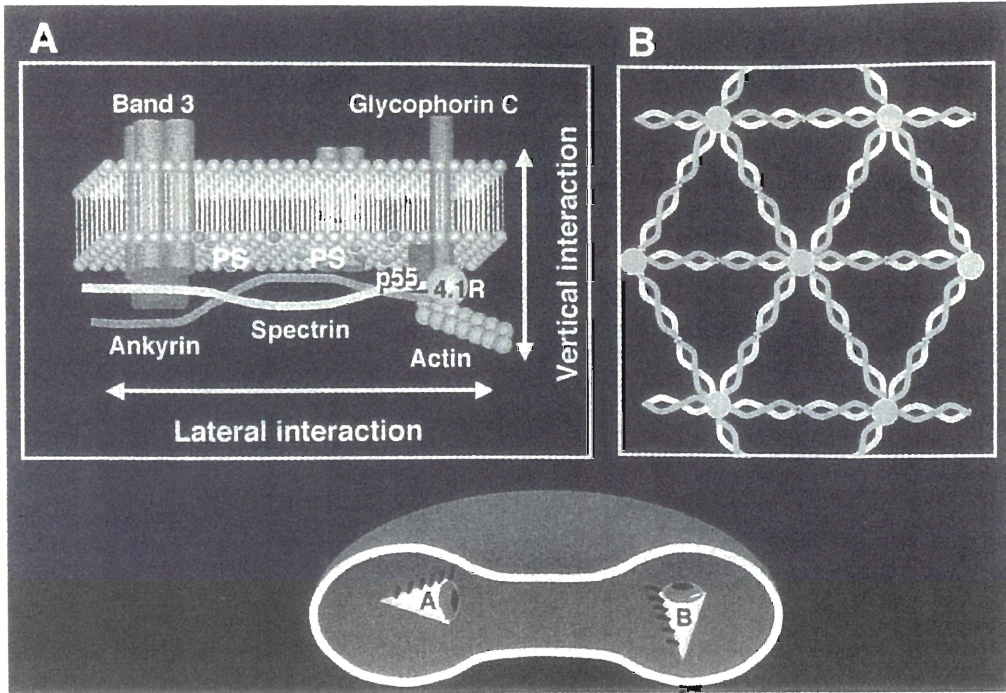


Fig. 9 Structure of erythrocyte membranes  
A; cross section view B; front view

(高桑雄一 分担研究者)

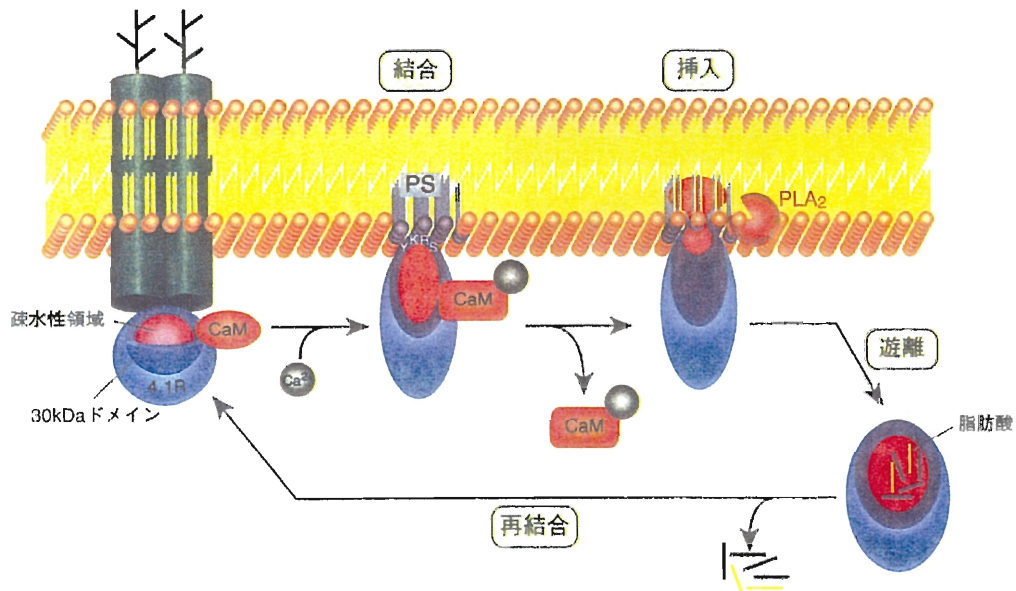
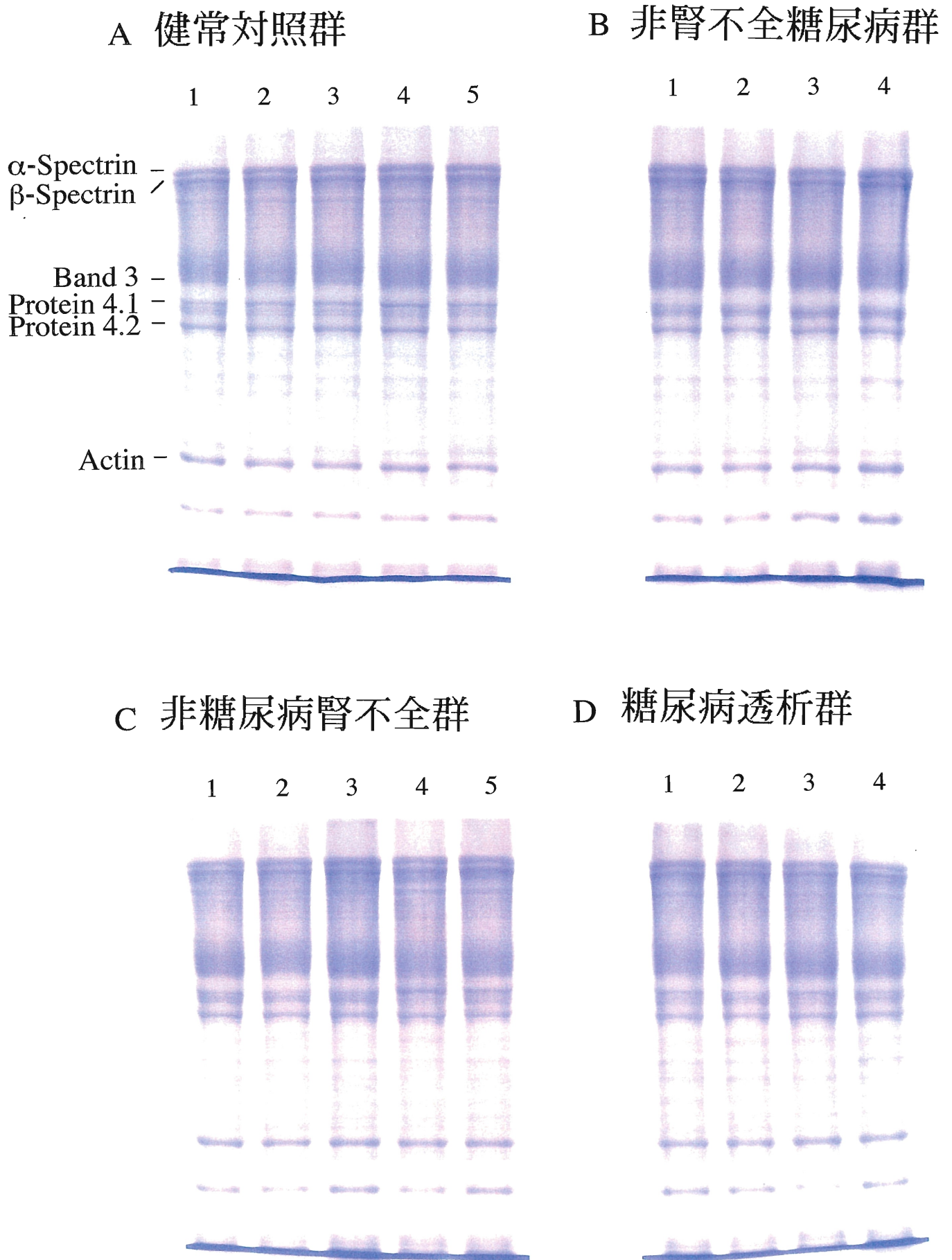


Fig. 10 タンパク質と細胞膜との相互作用に関する仮説

これはリソソームあるいは赤血球の反転膜小胞を用いた実験結果に基づく仮説である。Ca<sup>2+</sup>/CaMにより膜貫通タンパク質から解離した4.1タンパク質は、30kDaドメイン内のYKRS配列を介して負電荷を持つホスファチジルセリン(PS)の親水性頭部と結合する(結合)。總じて立体構造に大きな変化が生じ、30kDaドメインから突出した疎水性領域が脂質二重層に挿入され、膜リン脂質の脂肪酸部分と疎水的に固く結合する(挿入)。その際、Ca<sup>2+</sup>/CaMは4.1タンパク質から解離する。脂質二重層に挿入された4.1タンパク質は、ホスホリパーゼA<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>)の活性化により細胞膜から遊離する(遊離)。遊離した4.1タンパク質は、PLA<sub>2</sub>の作用により生じた脂肪酸を分子内に抱え込んでおり、この状態では結合相手と相互作用することができない。何らかの機構で(実験的には界面活性剤を用いて)抱え込まれた脂肪酸を除去すると、4.1タンパク質は結合能を取り戻し、再び膜貫通タンパク質に結合できるようになる(再結合)。

(高桑雄一 分担研究者)

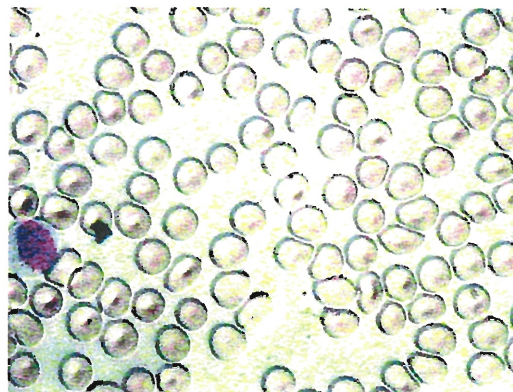
图11 SDS-PAGE (CBB染色)



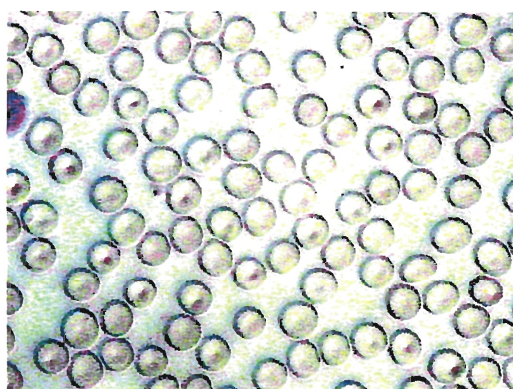
# 図12 形態観察

## A 健常対照群

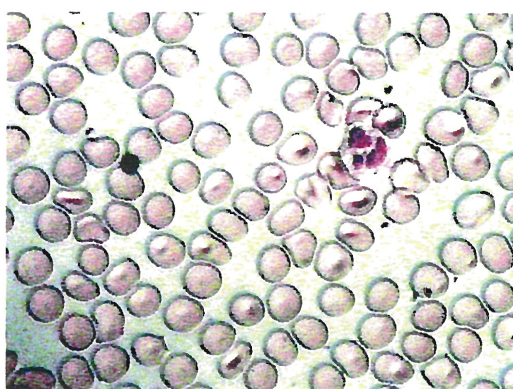
A 1



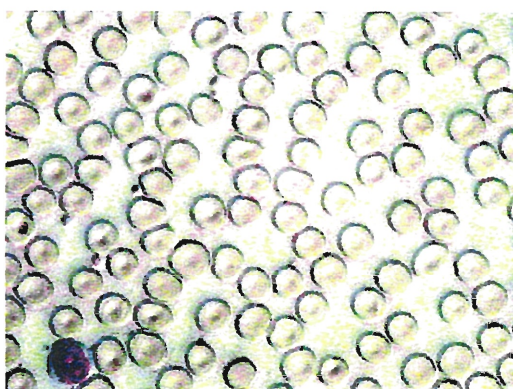
A 2



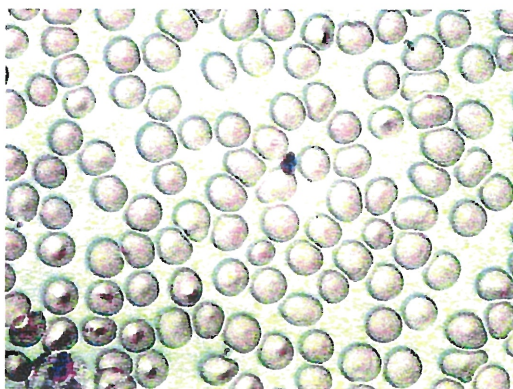
A 3



A 4

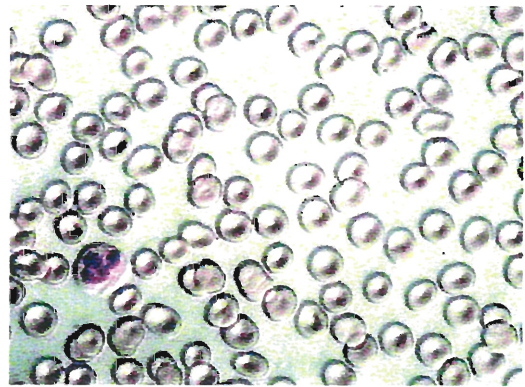


A 5

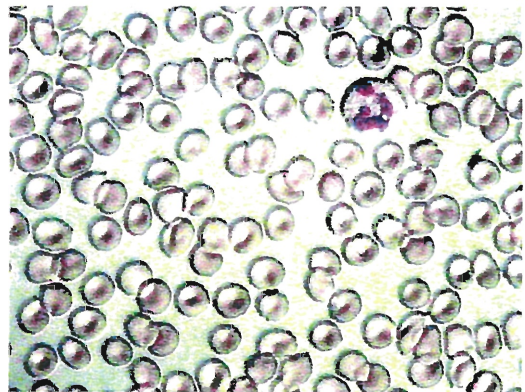


B 非腎不全糖尿病群

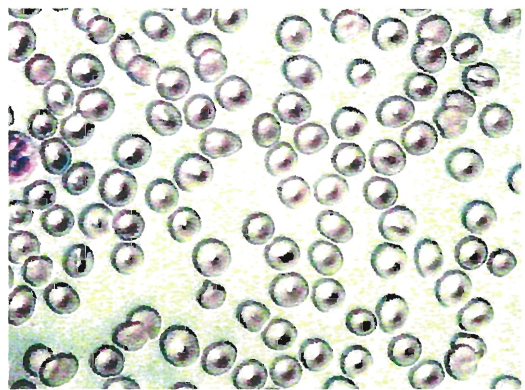
B 1



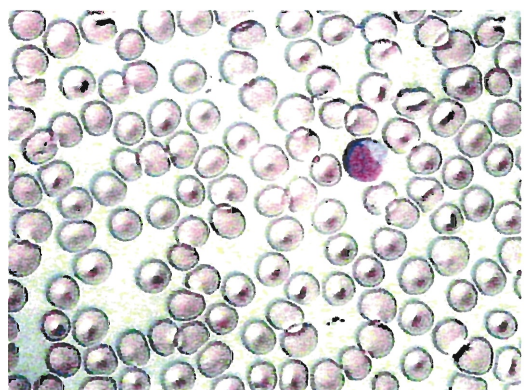
B 2



B 3

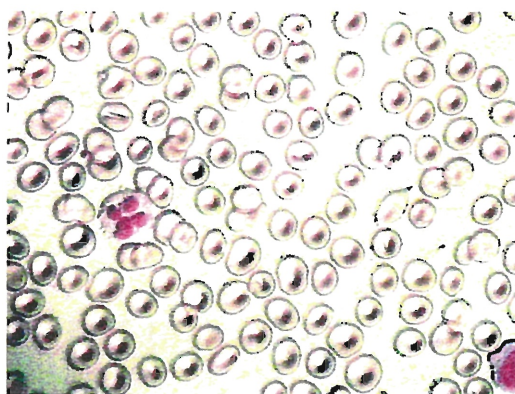


B 4

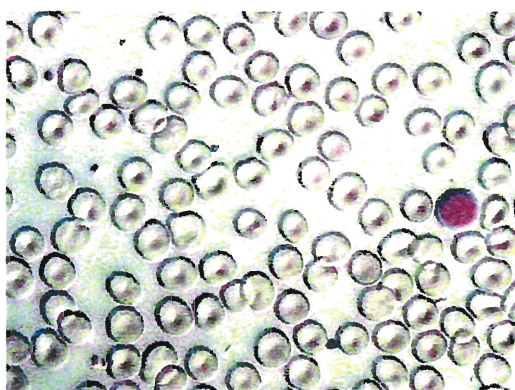


# C 非糖尿病腎不全群

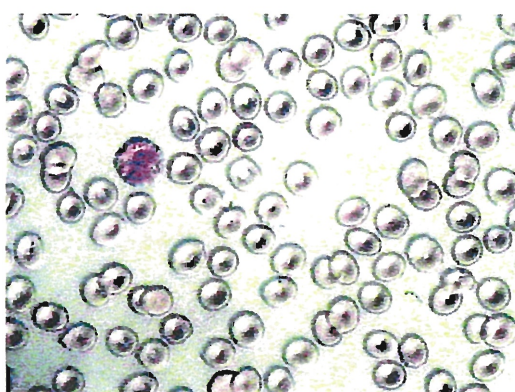
C 1



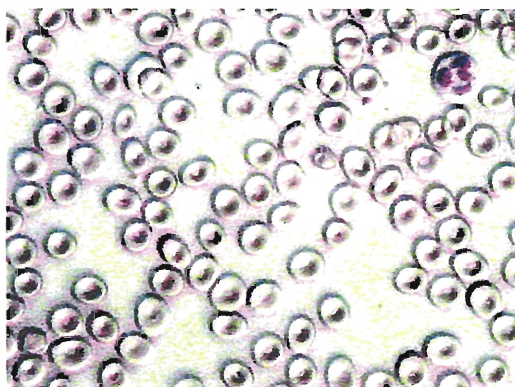
C 2



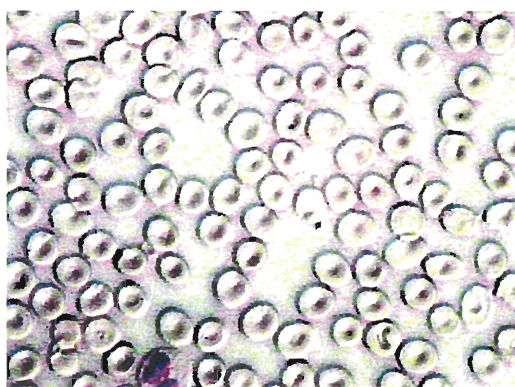
C 3



C 4

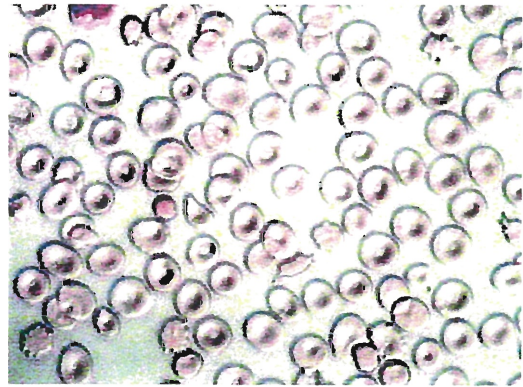


C 5

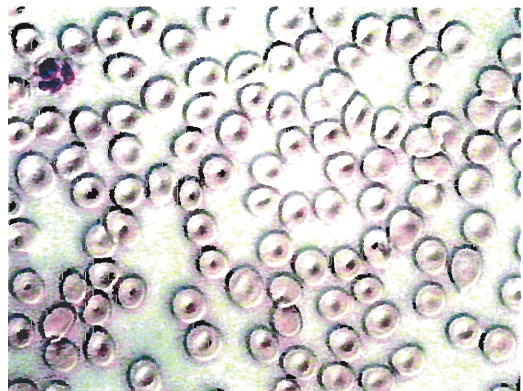


## D 糖尿病透析群

D 1



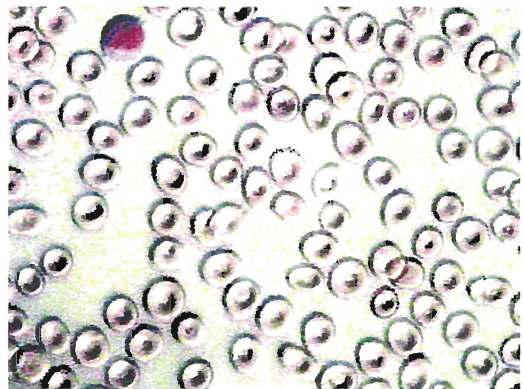
D 2



D 3



D 4





## 研究発表

### (1) 論文発表

1. Wataru Nonomura, Yuichi Takakuwa, John G. Conboys, et al :  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent and  $\text{Ca}^{2+}$ -independent calmodulin bindings sites in erythrocyte protein 4.1p. *Journal of Biological Chemistry* 275: 6360-6367, 2000
2. Wataru Nonomura, Yuichi Takakuwa, Narla Mohandas, et al: Regulation of protein 4.1R, p55, and glycophorin C ternary complex in human erythrocyte membrane. *Journal of Biological Chemistry* 275: 24549-24546, 2000
3. Yuichi Takakuwa : Protein 4.1, a multifunctional protein of the erythrocyte membrane skeleton: Structure and functions in erythrocytes and nonerythroid cells. *International Journal of HEMATOLOGY* 72: 298-309, 2000
4. Bong-Gyoon Han, Yuichi Takakuwa, Bing K. Jap, et al : Protein 4.1R core domain structure and insights into regulation of cytoskeletal organization. *Structural Biology* 7: 871-875, 2000
5. An XL, Takakuwa Y, Monhandas N, et al : Regulation of red cell membrane protein interactions: implications for red cell function. *Current Opinion in Hematology* 276: 35778-85, 2001
6. Toshihiro Ito, Satoshi Teraoka, Yasunori Kanazawa, et al : Present Status of Pancreas Transplantation in Japan. *Clinical Transplants* 2004 20: 1-9, 2004
7. 高桑雄一、萬野純恵、澤田賢一：赤血球および赤芽球系前駆細胞、赤芽球の単離球。血液・腫瘍学 40：1-9, 2000
8. 高桑雄一：赤血球膜を内側から眺める：膜骨格の機能とその異常。臨床血液 45：101-107, 2000
9. Xiu-Li An, Yuichi Takakuwa, Narla Mohandas, et al : Structural and Functional Characterization of Protein 4.1R-Phosphatidyserine Interaction. *The Journal of Biological Chemistry* 38: 35778-35785, 2001
10. Sumie Manno, Yuichi Takakuwa, Narla Mohandas : Identification of a functional role for lipid asymmetry in biological membranes: Phosphatidylserine-skeletal protein interactions modulate membrane stability. *PNAS* 99:1943-1948, 2002
11. Akinori Soejima, Fumika Kaneda, Yuichi Takakuwa, et al : Useful Markers for Detecting Decreased Serum Antioxidant Activity in Hemodialysis Patients. *American Journal of Kidney Disease* 39: 1040-1046, 2002
12. Tomomi Nakamura, Yuichi Takakuwa, Makoto Iwata, et al : Flowcytometric analysis of reticulated platelets in patients with ischemic stroke. *Thrombosis Research* 106: 171-177, 2002
13. Yuichi Takakuwa : Regulation of red cell membrane protein interactions: implications for red cell function. *Current Opinion in Hematology* 8: 80-84, 2001

14. 副島昭典、松澤直輝、高桑雄一、他：鉄刺激による赤血球膜脂質の過酸化反応を用いた透析患者血漿の抗酸化能の定量. 磁気共鳴と医学 13:195-197, 2002
15. 寺岡 慧：膵移植. (赤沼安夫編) 糖尿病 2001、東京、223-232 頁, 2001
16. 寺岡 慧、石井晶子、馬場園哲也：糖尿病治療の新たな展望. 膵臓移植と膵島移植. (赤沼安夫編) 糖尿病 2005、日本評論社、256-266 頁、2004
17. 寺岡 慧：膵腎同時移植. 日医誌 130:255、2003
18. 山口 裕、中島一朗、寺岡 慧、他：膵腎同時移植. 急性拒絶反応の病理学的診断. 腎移植・血管外科 14:139-143、2003
19. 渕之上昌平、中島一朗、寺岡 慧：膵臓移植の現況と今後の展望. 腎と透析 51:732-736、2001
20. 中島一朗、寺岡 慧、岩本安彦、他：脳死ドナーからの膵腎同時移植の経験. 今日の移植 14:338-339、2001
21. 渕之上昌平、寺岡 慧：膵移植とアフエレシス. 日本アフエレシス会誌 20:139-144、2001
22. 寺岡 慧、東間 紘、二瓶 宏、他：腎臓移植 (膵腎複合移植も含む) の現況. 臨床透析 16:1149-1760、2000
23. 寺岡 慧、中島一朗、渕之上昌平、他：膵移植. カレントセラピー 18:1790-1799、2000
24. Toshihiro Ito, Satoshi Teraoka, Yasunori Kanazawa, et al: Present Status of Pancreas Transplantation in Japan. [Cecka JM, Terasaki PI eds] Clinical Transplants 2004, UCLA Immunogenetics Center, Los angeles, pp1-9, 2004
25. 寺岡 慧：膵移植. (杉本恒明、小俣政男、水野美邦編) 内科学、朝倉書店、東京、292-296 頁、2003
26. 寺岡 慧：膵臓移植. 新糖尿病学 (印刷中)

## (2) 学会発表

1. 高桑雄一：細胞膜を内側から眺める 膜骨格の機能とその調節. 膜 26: 164-170, 2001
2. 高桑雄一：赤血球膜を三重層として捉える 膜骨格が維持する赤血球の形態、変形能、膜安定性. 人工血液 7: 99-104, 1999

3. 高桑雄一、萬野純恵：赤血球の変形能（レーザー回析法）とマイクロチャンネル通可能の比較検討. *International Journal of Hematology* 71: 189, 2000
4. 高桑雄一：4.1 タンパク質 その多彩な分子間相互作用と機能. *細胞工学* 21: 395-401, 2002
5. 水野章子、高桑雄一：赤血球膜変形能に対する膜骨格蛋白質の糖化の影響. *生化学* 74: 798, 2002
6. 萬野純恵、服部美奈子、高桑雄一、他：PKC による 4.1 蛋白質のリン酸化部位の決定と赤血球膜機能調節. *東京女子医科大学総合研究所紀要* 21: 21, 2001
7. 萬野純恵、高桑雄一：PKC による赤血球膜蛋白質のリン酸化と膜機能調節. *生化学* 74: 798, 2002
8. 岩藤和広、中島一郎、寺岡 慧、他：糖尿病腎不全患者に対する膵腎複合移植・腎単独移植の術後血糖値の変動とその問題点. *移植総会臨時号* 39:306, 2007
9. 石井晶子、馬場園哲也、寺岡 慧、他：1 型糖尿病の根治治療としての膵（島）移植. 脳死ドナーからの膵腎同時移植を受けた 1 型糖尿病 2 例の経過. *糖尿病* 47 (Suppl 1): 54, 2004
10. 澤田登起彦、提嶋淳一郎、寺岡 慧：Edmonton 法を用いたブタ膵島分離の試み. *移植総会臨時号* 39:106, 2004
11. 馬場園哲也、寺岡 慧、岩本安彦、他：糖尿病性腎不全に対する腎移植. 1 施設における 21 年の経緯. *糖尿病臨増* 46: 229, 2003
12. 石井晶子、馬場園哲也、寺岡 慧、他：膵移植患者における膵内分泌機能の検討. 心停止及び脳死移植の比較. *糖尿病臨増* 46: 139, 2003
13. 馬場園哲也、岩本安彦、寺岡 慧：心停止あるいは脳死ドナーからの膵移植 12 例の経験から. *糖尿病* 45 (Suppl 2): 45, 2002
14. 石井晶子、馬場園哲也、寺岡 慧、他：脳死ドナーからの膵腎同時移植を受けた糖尿病性腎不全の 1 例. *糖尿病* 45: 441, 2002
15. 中島一郎、瀧之上昌平、寺岡 慧、他：脳死ドナーからの膵腎同時移植の経験. 術後 1 年を経過して. *日腎誌* 44: 189, 2002
16. 提嶋淳一郎、Sutherland D、寺岡 慧、他：小腸壁への膵島移植法. ブタ同種移植モデルでの検討. *移植総会臨時号* 36: 131, 2001
17. 寺岡 慧、馬場園哲也、岩本安彦：膵移植の現況と将来. Calcineurin inhibitor の移植膵ラ島毒性. *膵臓* 16: 240, 2001

18. 寺岡 慧、馬場園哲也、岩本安彦、他：膵移植周術期における人工膵島による血糖管理. 人工臓器 29 : 30、2000
19. 寺岡 慧、馬場園哲也、岩本安彦、他：膵腎複合移植における免疫抑制法. 日臨免疫会誌 23 : 634、2000