

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	喜 多 貞 彦
論文題目	The protective effect of transplanted liver cells into the mesentery on the rescue of acute liver failure after massive hepatectomy (大量肝切除後急性肝不全に対する腸間膜への肝臓細胞移植の救命効果は、移植細胞の残肝保護効果による)		
(論文内容の要旨) 【目的】 致死的肝不全に対する最も有効な治療として肝移植が確立されているが深刻なドナー不足が問題となっており、代替療法として肝細胞移植が期待される。一方、術後肝不全は肝胆道癌の治療である大量肝切除後の最も重大な合併症の一つである。急性肝不全に対して経脾・経門脈的肝細胞移植の有効性が報告されているが、移植細胞が門脈塞栓を起こし、類洞を障害し、肝実質内に生着することで肝細胞機能を発揮する。しかし、大量肝切除後の小さな残肝にとって門脈塞栓による肝障害は致命的であり、大量肝切除後急性肝不全に対しては、門脈塞栓を起こさない異所性肝細胞移植が望ましい。これまでに、異所性肝細胞移植が急性肝不全モデルの致死率改善に寄与したとする報告が散見されるが、その機序は明らかでない。以上より、異所性肝細胞移植が術後急性肝不全を救命する機序について検討することを本研究の目的とした。 【方法】 致死的急性肝不全モデルとして 90%肝切除を施行した野生型 F344 ラット腸間膜内に、F344GFP ラットから採取した肝臓細胞を肝切除直後に移植した(肝臓細胞移植群)。これに対し、肝臓細胞 homogenate を移植した群(肝臓細胞 homogenate 群)、90%肝切除のみ施行した群(対照群)を作製し、各群間で生存解析を行った。移植肝臓細胞の存在を GFP シグナルに対する IVIS により継時的に評価するとともに組織学的にも検証した。また、Nagase 無アルブミンラットに対する移植により移植肝臓細胞の継時的機能評価を行った。一方、残肝組織に対して HE 染色による組織学的評価を行うとともに ATP 活性により機能的障害度を評価した。移植に伴う門脈血中サイトカインの変化を網羅的に解析し、残肝保護効果に寄与する因子を検証した。さらに、肝臓細胞内に含まれる肝実質細胞と非実質細胞を分離したうえでそれぞれを移植し、肝不全改善効果を検証した。 【結果】 細胞移植後 7 日目の生存率は、肝臓細胞 homogenate 群 (3/13, 23%)、対照群 (1/13, 7%) に比較して肝臓細胞移植群 (9/13, 69%) で有意に改善を認め、術後血中総ビリルビン値及び血中アンモニア値の上昇も軽度であった。移植した肝臓細胞は移植直後より急激に減少して機能喪失していくことが確認されたが、肝臓細胞移植群の術後残肝組織では、対照群において認められた肝細胞の空胞変性が軽度であり、残肝組織中の ATP 濃度も対象群と比較して有意に高値であった。これは、大量肝切除に伴う残肝組織障害が肝臓細胞移植により軽減されることを示していた。また、移植 8 時間後に移植細胞を外科的に除去する移植細胞除去群では移植後 24 時間の血中アンモニア値や残肝組織所見が肝臓細胞移植群と同等であり、移植細胞の効果は移植後 8 時間以内に限られる可能性が示唆された。一方、肝臓細胞移植群において門脈血中に有意に上昇している液性因子を同定することはできなかった。さらに、肝実質細胞移植群における移植後 24 時間の残肝組織障害(肝細胞空胞変性・ATP 濃度)が非実			

<p>質細胞移植群(対照群と同等)と比べて軽度であり、移植後 7 日目の生存率も非実質細胞移植群より高い傾向にあった。</p> <p>【結語】 大量肝切除後の急性肝不全に対し、腸間膜内への肝臓細胞移植により致死率改善効果が期待できるが、移植肝臓細胞内に含まれる肝実質細胞の直接的肝機能補填効果よりも残肝組織障害に対する保護効果によるものであることが示唆された。本研究結果は、大量肝切除後の術後肝不全に対する異所性肝細胞移植を臨床応用する際に重要な知見になると考えられた。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>致死的肝疾患の治療における肝移植の代替療法として肝細胞移植が期待される。しかし、大量肝切除後の小さな残肝では、経門脈的肝細胞移植による門脈塞栓が惹起する肝障害は致命的であり、門脈塞栓を起こさない異所性肝細胞移植が望ましい。申請者は腸間膜への肝細胞移植の大量肝切除後急性肝不全に対する救命効果と、その機序の解明を目的とし研究を行った。</p> <p>大量肝切除後肝不全モデルである 90%肝切除を施行したラットの腸間膜に同系ラットより分離した肝臓細胞を移植した群では、非移植群に対して術後血中総ビリルビン値及び血中アンモニア値の上昇が軽度であり、有意に生存率の改善を認めた。移植肝臓細胞は移植後早期に減少、機能喪失していくことが組織学的に確認された一方で、移植群では大量肝切除により惹起される残肝組織障害が軽減されることを組織学的かつ生化学的に確認した。また、移植後 8 時間で移植細胞を除去しても同様の残肝組織保護効果が確認された。さらに、肝臓細胞移植群で認められた残肝保護効果は肝非実質細胞移植群では認められず、肝実質細胞移植群では認められた。以上の実験結果から、大量肝切除後急性肝不全の救命の機序としては、移植肝実質細胞が移植後早期に残肝組織に対して及ぼす保護効果によるものであることが示唆された。</p> <p>本研究結果は、大量肝切除後の術後肝不全に対する異所性肝細胞移植を臨床応用する際に重要な知見になると考えられる。</p> <p>したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として、価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 6 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>

