

京都大学	博士（医学）	氏名	遠藤耕介
論文題目	Pretransplant replacement of donor liver grafts with recipient Kupffer cells attenuates liver graft rejection in rats (ラットにおいて肝移植術前に肝グラフト内のクッパー細胞をレシピエント由来細胞に置換することで肝移植後の拒絶反応が軽減する)		
(論文内容の要旨) 【背景】 肝移植においてドナー不足は深刻な問題である。この問題を解決する手段の一つとして、異種動物由来の臓器を利用する異種移植はドナーソースの観点から非常に有望である。しかし、異種移植においては異種抗原に対する強い拒絶反応が臨床応用の大きな障壁となっている。肝移植前に肝グラフト内の異種由来細胞を同種由来の細胞に置換することが可能となれば、この問題が解決できる可能性がある。また、肝再生の過程において、骨髄由来の細胞が肝臓内で様々な肝構成細胞に分化するとの報告が散見される。そこで、本研究では肝移植ドナーに対して術前にレシピエント由来の骨髄細胞を移植する事で、肝グラフト内の構成細胞の置換および拒絶反応の軽減を得られないかを検討した。 【方法】 ラット同種間強拒絶肝移植モデル(ドナー:DA ラット、レシピエント:Lewis ラット)を用いて検討した。実験群(BMC 群)ではドナーに対して 10 Gy の全身放射線照射を行い、翌日にレシピエントと同系統である LacZ 遺伝子トランスジェニック Lewis ラットから採取した骨髄細胞を移植した。骨髄細胞移植から 6 日目に肝移植を施行した。対照群(CTR 群)は、術前処置無しで肝移植のみを施行したものとした。肝移植術前の骨髄細胞移植による拒絶反応軽減効果について、①肝移植術後の生存期間、②肝移植術後 7 日目の血液検査、肝の病理組織学的検査を用いて評価を行った。また、移植した骨髄細胞の肝グラフト内での生着および分化について評価する目的で肝組織の Xgal および免疫染色を行った。 【結果】 CTR 群と比較して BMC 群では肝移植術後の生存期間が延長した。肝移植術後 7 日目の血液検査では血清総ビリルビン値およびヒアルロン酸値の上昇が軽減し、Th1 系の炎症性サイトカインである interleukin-2 および interferon- γ の上昇が抑制されていた。肝組織のヘマトキシリン・エオジン染色ではグリゾン領域の炎症細胞浸潤の軽減を認めた。Xgal 染色では、Xgal 陽性の移植骨髄由来細胞を肝類洞腔に認めた。Xgal 染色と免疫染色の 2 重染色を施行しこれらの細胞の分化について評価したところ、Xgal 陽性細胞は内皮細胞のマーカーである CD31 には陰性で、クッパー細胞のマーカーとされる CD68 および CD163			

に対して陽性を示し、クッパー細胞に分化していた。骨髄細胞移植を施行したドナーに対して肝移植前日に GdCl₃ を投与することでクッパー細胞の機能を抑制し、肝移植を施行したところ、CTR 群と比較して肝移植術後の生存期間に有意差を認めなかった。

【結論】

肝移植ドナーに対する術前の骨髄細胞移植によって、肝グラフト内のクッパー細胞が置換され、肝移植術後の拒絶反応が軽減した。本方法は異種移植の拒絶反応克服の一助となる可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

近年、末期肝不全患者に対する治療法として肝移植は確立したものとなっている。その一方で、肝移植におけるドナー不足は深刻な問題として残っている。異種移植はこのドナー不足問題を解決し得る手段として注目されている。ドナーに対する処置などにも利点を有する反面、異種抗原に対する拒絶反応などの問題を抱えている。

本学位申請者は肝移植術前にドナーに対してレシピエント由来の骨髄細胞移植を行うことで、肝グラフト内の細胞置換および肝移植術後の拒絶軽減の可能性を検討した。

ラット強拒絶肝移植モデルを用い、肝移植ドナーに対して術前にレシピエントと同系統由来の骨髄細胞を移植した。骨髄細胞移植を行った群では術前処置なしに肝移植を行った群に比して生存期間が延長し、拒絶反応の軽減が得られた。骨髄細胞移植後、肝移植前日に塩化ガドリニウムをドナーに投与することでクッパー細胞の機能を抑制したところ肝移植術後の生存期間延長効果が消失した。これらの結果より肝移植術前に骨髄細胞移植を行うことで肝グラフト内のクッパー細胞がレシピエントと同系統由来細胞に置換されること、そしてその置換によって拒絶反応の軽減が得られることを確認した。

以上の研究は、異種移植における拒絶反応克服のための新たな手段の解明に貢献し、臓器移植医療の発展に寄与するところが多い。

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 27 年 3 月 4 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。