京都大学	博士（医学）	氏　名	吾拉木江　艾尼
論文題目	Telomere shortening and karyotypic alterations in hepatocytes in long-term transplanted human liver allografts （肝移植後長期経過例の肝細胞のテロメア長と核型異常の検討）		

（論文内容の要旨）

［背景］：日本の小児生体肝移植では、多くは（96%）両親から肝臓が提供される（日本肝移植研究会［2008］）。親ドナーからの肝移植で、小児レシピエントのグラフトの予後について細胞老化の視点からの検討はほとんどされてない。テロメア短縮と異常核型は細胞老化の指標である(Lechel, 2005; Aviv, 2001)。

グラフトの老化が問題となる長期移植例では、移植 10 年後肝機能が正常にもかかわらず、慢性肝炎の組織像を示す特発性移植後肝炎症例が高頻度（64%）にみられる(Evans, 2006)。一方、移植後 10 年以上（1992 年～2006 年）経過し、肝機能正常、免疫抑制剤が中止できた安定症例が存在する(Mazariegos, 2007)。

［目的］：移植後長期安定群と特発性移植後肝炎症群のグラフト肝の肝細胞テロメア短縮と異数体化などゲノム異常について検討し、予後との関連を明らかにする。

［方法］：移植の原因疾患を本研究では congenital biliary disease とした。1990 年から 2008 年 8 月まで京都大学附属病院で 735 例の小児生体肝移植術が行われており、そのうち 8 年以上経過観察された症例は 281 例、8 年以上の経過観察生検組織があった症例 137 例、安定群或いは特発性移植後肝炎群として経過観察された症例 58 例で、原因疾患は congenital biliary disease ではなかった症例や移植後 1 年以内の生検組織が得られなかった症例などを除外すると長期安定症例 10 例、特発性移植後肝炎症例 7 例となった。長期安定症例 10 例と特発性移植後肝炎症例 7 例を対象とし、移植早期と晩期にてテロメア特異的 PNA プローブを用いた Q-FISH を行った。テロメア Q-FISH はホルマリン固定パラフィン切片も対応できる点で優れている。Meta imaging Series ソフトウェアで蛍光強度を測定し、テロメアシグナル強度を評価した。

また、加齢に伴い肝細胞 abnormal karyotype の比率が増加する(Sigal, 1999；Gupta, 2000)。肝細胞核の異数体化は XY 染色体プローブによる FISH 法で評価した。

［結果］：長期安定群は組織学的にはほぼ正常で、拒絶反応の所見はみられなかった。それに対し、特発性移植後肝炎群は抗核抗体など自己抗体、IgG 高値を伴い、インターフェイス肝炎の像を示した。両群の経過観察時間、ABO 型、HLA 抗原など臨床データでは有意差はなかった。それをベースにテロメア特異的 Q-FISH 法にて肝細胞テロメアシグナル強度を評価した。移植後早期（1 年以内）と移植 10 年後、長期安定群及び特発性移植後肝炎群に年齢予測値以上にテロメアシグナルの低下が認められた。両群ともに移植後早期に急激なテロメアシグナルの低下を示したが、特発性移植後肝炎群で低下率が高かった。移植後早期（1 年以内）と移植 10 年後、両群でテロメアシグナルの低下率に有意差はなかった。XY FISH 法では、長期安定群のほうが特発性移植後肝炎群より移植 10 年後に abnormal karyotype の比率が有意に低かった(P=0.043)。単変量解析ではドナー肝の高い abnormal karyotype の比率が特発性移植後肝炎への発症に相関した(P=0.022)。グラフト/レシピエント体重比が低いほど特発性移植後肝炎に進行するリスクが有意に高かった(P=0.0085)。多変量解析ではグラフト早期（1 年以内）の高いテロメア短縮率が特発性移植後肝炎の発症に相関した(P=0.019)。

［結論］：肝移植後早期（1 年以内）のグラフト内の肝細胞のテロメア短縮および abnormal karyotype の比率はグラフト肝の長期にわたる状況について有用な情報を提供すると考えられた。

（論文審査の結果の要旨）

成人から移植を受けた小児の患者で、グラフト肝の老化と、予後の関係は詳しくは知られてない。申請者は、肝細胞老化と肝組織像の関連を検討した。

本研究では移植の原因疾患として先天性胆道疾患患者を選択した。臨床的背景を揃え、免疫抑制剤から離脱できた安定群 (tolerated grafts, TG) 10 例と、慢性肝炎様の組織像を示し拒絶反応状態にあるとされる特発性移植後肝炎群 (idiopathic post-transplant hepatitis, IPTH) 7 例を選択し、移植前、移植後 1 年以内（早期）および 10 年前後（長期）の組織標本を、時系列で解析した。老化の指標として、 肝細胞テロメア長および核型異常を fluorescence in situ hybridization 法で検討した。

テロメアシグナルは、TG 群と IPTH 群の両群で、移植後早期および長期ともに、移植肝臓の年齢から推定される予測値に比べ、低下傾向が認められた。特に、IPTH 群の移植後早期の肝細胞で、この低下率が高かった。核型分析では、TG 群に比べて IPTH 群で、有意に移植後長期での異常核型比率が高かった。臨床データと併せた単変量解析では、ドナーの異常核型の高比率が、多変量解析では、移植後早期のテロメアシグナルの大きな低下が、IPTH の発症リスクと関連することが示された。

以上の研究は今後の移植肝生検診断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２４年１２月１０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。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降