

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	金 澤 寛 之
論文題目	Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate hepatic ischemia reperfusion injury in a rat model (骨髄由来間葉系幹細胞は肝阻血再灌流障害を軽減する)		
(論文内容の要旨)			
【背景】肝移植医療において脳死ドナーを補う代替手段として生体肝移植が行われているが、成人生体肝移植ではドナー安全性の見地から左葉グラフトが優先的に選択される状況下で、レシピエントに移植されるグラフトが過小グラフトになることが少なくない。このような症例は術後、過小グラフト症候群に陥り術後管理に難渋することが多い。さらに移植医療では阻血再灌流障害は必然であり、グラフト機能障害の主な原因の一つである。 過小グラフトにおいて阻血再灌流障害を軽減し、さらには術後早期に有効な肝再生を導くことが可能であるならば、過小グラフトによる肝移植成績のさらなる向上につながると予想される。 近年、間葉系幹細胞（以下、MSC と略）が、種々の組織再生の細胞源として注目されているとともに、損傷組織の治癒を促進する作用があることが心筋梗塞、脳梗塞、肝硬変、急性腎不全モデル等に対して示されているが、肝阻血再灌流障害に対する MSC の役割について示した報告はない。 【目的】過小グラフトによる肝移植疑似モデルとして、肝臓に阻血再灌流障害を加えさらに大量肝切除を施したラットモデルを独自に作製し、このモデルに対する MSC の効果について明らかにする。 【方法】Wild type Lewis ラットの肝門部をクランプすることで 40 分間の肝部分阻血後、70%肝切除を行った。その後、Control 群では経門脈的に PBS を投与し、MSC 群では 1x10^6 個の MSC を懸濁した PBS を投与した。MSC は luc-LacZ double transgenic Lewis ラットの骨髄から樹立したものを継代培養し使用した。MSC は表面抗原が CD29+、CD105+、CD31-、CD34-であることを確認し、さらに骨、軟骨、脂肪への多分化能を有することを確認した。投与された MSC の luiferase 活性を In Vivo Imaging System を用いることで MSC の挙動を経時的に追跡し、さらに X-gal 染色により肝組織中の MSC の局在を詳細に観察した。本モデルに対する MSC の治療効果は肝機能検査、免疫組織化学的評価、および残肝再生率で検討した。 【結果】経門脈的に投与された MSC は残肝に生着し luciferase 活性が一旦増幅した後、経時的に漸減していった。また肝組織中の X-gal 陽性細胞として観察された MSC は主に門脈域とその周辺組織に分布し類洞内に存在していた。肝機能検査では、ALT 値が MSC 群で有意に低く抑えられていた(MSC 群: 1136 ± 325 IU/L, Control 群: 2198 ± 854 IU/L, p<0.03)。			

TUNEL 染色では、Control 群で中心静脈周囲に TUNEL 陽性細胞が散在していたが、MSC 群では有意に TUNEL 陽性細胞が少なかった(MSC 群: 0.5 ± 0.5 cells/HPF, Control 群: 10.5 ± 0.7 cells/HPF, $p < 0.03$)。また Suzuki scores では MSC 群で有意に良好であり(MSC 群: 1.4 ± 1.3 , Control 群: 3.9 ± 1.7 , $p < 0.03$)、阻血再灌流障害に伴う組織障害が MSC 群で軽減されていることが組織学的にも示された。術後の肝再生率は、術後 1 日目、3 日目では MSC 群で高い傾向があり、術後 7 日目では MSC 群で有意に肝再生率が高値を示していた(MSC 群: 0.79 ± 0.08 , Control 群: 0.62 ± 0.09 , $p < 0.03$)。

【結論】MSC は肝阻血再灌流障害を抑え、肝組織修復、肝再生に有効である可能性が示された。

(論文審査の結果の要旨)

過小グラフトによる肝移植は阻血再灌流障害が増幅され予後不良である。骨髄由来間葉系幹細胞（以下 MSC と略）が障害組織修復・組織再生効果を示すことが報告されているが、肝阻血再灌流障害への効果については不明である。申請者らは、過小グラフトによる肝移植を想定した新しいラットモデルを作製し、MSC の効果について検討した。MSC は luc-LacZ Tg ラットの骨髄から樹立し、40 分温阻血・70%肝切除を加えた実験モデルに経門脈的に投与した。投与された MSC の分布を、luciferase 発光反応を利用することで追跡し、組織学的には X-gal 染色でその局在を観察した。MSC は肝臓の Zone 1 の類洞内に局在し、経時的に漸減した。MSC 投与により肝逸脱酵素は低値を示し、TUNEL 陽性肝細胞が減少した。組織学的には類洞うっ血、空胞変性、壊死の所見が軽減されていた。また、残肝重量の増加率は MSC 投与により有意に高値を示した。以上の結果より、MSC は肝阻血再灌流障害を抑え、肝組織修復、肝再生に有効である可能性が示された。

以上の研究は、骨髄由来間葉系幹細胞が肝阻血再灌流障害および肝再生に与える影響の解明に貢献し、過小グラフトによる肝移植成績の向上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 2 月 1 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。