

氏 名	待 本 貴 文
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3170 号
学位授与の日付	平 成 20 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Improvement of the survival rate by fetal liver cell transplantation in a mice lethal liver failure model (胎仔肝細胞移植によるマウス致死性肝障害モデルの生存率の改善)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 坂 井 義 治 教 授 中 辻 憲 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】肝移植は終末期肝疾患に対する治療手段として確立されている。しかし恒常的ドナー不足は深刻な問題であり、肝移植までの” bridge therapy”あるいは代替治療として肝細胞移植が注目されている。すでに臨床において先天性酵素欠損症では成体由来の成熟肝細胞移植の有用性が示されているが、肝細胞移植療法の確立のためには移植細胞の安定供給源の確保と急性および慢性肝疾患モデルにおける細胞移植の有効性を検証することが課題となっている。本研究では、diphtheria toxin 投与により肝細胞障害を誘発する transgenic mouse を用いた急性致死性肝障害モデルの作成および本モデルを用いたマウス胎仔肝前駆細胞の細胞移植における有用性について検討した。

【方法】diphtheria toxin の受容体である Human heparin binding epidermal growth factor-like growth factor (HBEGF) を albumin プロモーター下に発現させた Alb-HBEGF transgenic mouse は、diphtheria toxin 投与により量依存的にかつ肝細胞特異的に障害を引き起こす。このマウスに diphtheria toxin を投与し、惹起された肝障害を肝組織 HE 染色および血清 ALT 値にて評価しながら、diphtheria toxin 投与量、投与間隔を検討し、急性致死性肝障害モデルプロトコルを作成した。移植細胞として、green fluorescence protein (GFP) transgenic mouse から胎生 13.5 日胎仔肝前駆細胞を採取し、個体あたり 1×10^6 個を脾臓へ移植した移植群 (n=20) と非移植群 (n=20) で生存率の比較を行った。蛍光顕微鏡にてレシピエント肝臓内における GFP 陽性細胞を確認することにより移植細胞の生着、増殖の経過を観察した。また、抗 GFP 抗体と抗 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 抗体および抗 albumin 抗体との二重免疫染色により生着細胞の増殖能、肝細胞機能の発現を検討した。

【結果】toxin 投与後の血清 ALT 値は、投与量に依存し、投与後 48–72 時間を peak とした後、120 時間で正常化した。初回投与後 4 日間隔をおき、以後投与量を漸増しつつ 3 日間隔で投与を継続、肝障害を持続させた後、22 日目には致死量を投与し、急性致死性肝障害を惹起させた。移植群では生着した GFP 陽性細胞は移植後 12 日目には colony を形成しつつ増殖していた。22 日目には広範囲にわたりレシピエント肝臓内に GFP 陽性細胞を認め、形態的に成熟肝細胞の特徴を示していた。これらの GFP 陽性細胞はすべて PCNA 陽性および albumin 陽性であり、移植後も移植細胞が活発な増殖能を保持しつつ、albumin 産生を継続していることが確認された。生存率の比較では、移植後 25 日目で非移植群では全例が致死 (平均生存期間 15.0 日) であったに対して、移植群では生存率は 40% (8/20、平均生存期間 24.0 日) であった。(P=0.0047)

【結論】新たに作製したマウス致死性肝障害モデルにおいてマウス胎仔肝前駆細胞を用いた細胞移植は生存率の改善に有効であった。劇症肝炎などの急性致死性肝障害に対する移植細胞源として肝前駆細胞が候補となりうる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

肝移植は終末期肝疾患に対する最も有効な治療手段であるが、恒常的なドナー不足は深刻な問題であり、その代替治療として肝細胞移植が注目されている。本研究では、diphtheria toxin 投与により肝細胞障害を誘発する transgenic mouse を用

いた急性致死性肝障害モデルを新たに作製し、マウス胎仔肝前駆細胞の細胞移植における有用性について検討した。

この肝障害モデルに GFP transgenic mouse 由来胎生 13.5 日胎仔肝前駆細胞を採取し、脾臓へ移植したところ、GFP 陽性細胞が生着し、時間の経過とともに colony を形成しつつ増殖し、22 日目にはレシピエント肝臓内に広範囲に GFP 陽性細胞を認め、形態的に成熟肝細胞の特徴を示していた。またこれらの GFP 陽性細胞はすべて PCNA 陽性および albumin 陽性であり、移植後も移植細胞が活発な増殖能を保持しつつ、albumin 産生を継続していることが確認された。生存率の比較では、移植後 25 日目で非移植群では 20 例全例が致死であったに対して、移植群では生存率は 40% (8/20) であった。劇症肝炎などの急性致死性肝障害に対する移植細胞源として肝前駆細胞が候補となりうる可能性が示唆された。

以上の研究は、劇症肝炎などの急性致死性肝障害に対する移植細胞源として肝前駆細胞の有用性を明らかにするもので、肝細胞移植の臨床応用に寄与するところが多い。

したがって、本研究は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認められる。

なお、本学位授与申請者は、平成 19 年 11 月 26 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。