

渡海大隆 論文内容の要旨

主 論 文

Efficacy and limitation of bone marrow transplantation in the treatment of acute and subacute liver failure in rats

ラット急性および亜急性肝不全モデルに対する骨髄細胞移植の治療効果と限界

渡海大隆、川下雄丈、伊藤雄一郎、山之内孝彰、高槻光寿、江口 晋、
田島義証、兼松隆之

Hepatology Research 2009; 39: 1137-1143

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員： 兼松 隆之 教授)

<緒 言>

末期肝不全に対して現在、主に行われている同所性肝移植はドナー不足の状態にあり、肝移植に代わりうる治療法の開発が望まれている。その一つとしての肝細胞移植は動物実験やヒトでの臨床試験で成功を収めているものの、多量の肝細胞を必要とし、しかも移植した肝細胞が長期間生着し機能を発揮するかについて明確な見解が得られていない。近年、骨髄細胞(BMC)が造血系以外の様々な細胞へ分化するとの報告がなされ、肝再生医療における細胞源として期待が寄せられている。

骨髄細胞を用いることの利点としては(i)骨髄細胞の抽出・精製・移植の手技が、血液疾患において確立されている、(ii)自家骨髄細胞を用いることで拒絶を回避できる、(iii)骨髄細胞には自己複製能があり、旺盛な増殖能を持つ、などが挙げられる。

本研究は劇症肝炎モデル(FHF モデル)と放射線照射による亜急性肝障害モデル(HIR モデル)を用い、同種骨髄細胞移植の治療効果について検討した。

<対象と方法>

動物

FHF モデルでは Sprague-Dawley (SD) ラットを用いた。HIR モデルでは Dipeptidyl peptidase IV 陽性 (DPPIV+) および DPPIV 陰性 (DPPIV-) の F344 ラットを用いた。

肝障害モデルの作成

(FHF モデル) ラットを開腹し肝前葉(肝全体の 68%)を摘出し、尾状葉(同 8%)は温存した。残りの右葉(同 24%)は pedicle を結紮し、摘出せずに壊死させることで劇症肝炎と同様の肝障害を惹起した。

(HIR モデル) FHF モデルと同様に肝前葉(肝全体の 68%)を摘出し、残肝(同 32%)に 50Gy の放射線照射を行なった。

骨髄細胞移植

ドナーを犠牲死させ、大腿骨から骨髄細胞を採取。遠心分離と赤血球溶解によって骨髄細胞を分離し、レシピエントの脾臓被膜下に全肝の約 2%である 2×10^6 個移植した。対照は生理食塩水の注入とした。

FHF モデル：FHF モデル作成後すぐに細胞移植を行い、生存期間を観察。移植後 12 時間後の血液生化学的項目等を検討。

HIR モデル : DPPIV-ラットで HIR モデル作成後、2 日目に DPPIV+ラット骨髄細胞移植を行い、生存期間を観察。長期生存したラットに対して 1, 3, 5 ヶ月後に犠牲死させ、肝組織の組織学的検討(DPPIV 染色)を行った。

検討項目

- ・ 各モデルと対照群との生存率および血液生化学的検査。
- ・ DPPIV-レシピエント肝組織におけるドナー骨髄細胞由来 DPPIV+ 肝細胞の検出。DPPIV+の検出は凍結標本を用いた特殊染色で行い、Scion image software により置換率を計算した。

<結 果>

FHF モデル

骨髄細胞移植では生存期間の延長効果を認めなかった。
血液生化学データ (AST、ALT、総ビリルビン) でも有意な差を認めなかった。

HIR モデル

骨髄細胞移植群の 150 日生存率は 74. 2%であり、対照群の 17. 1%と比較して有意に高かった。

レシピエント肝組織においてドナー骨髄細胞由来 DPPIV+細胞を認めた。また、ドナー細胞による肝組織の置換率は 13%であった。

<考 察>

本研究では致死的な急性肝障害あるいは放射線照射された肝臓における骨髄細胞移植について検討し、部分的ではあるが治療効果を認めた。

まず、劇症肝炎 (FHF) モデルについて、これまでの当教室における研究で、FHF に対する肝細胞移植の効果を証明してきたが、本研究では FHF モデルに対する骨髄細胞移植の治療効果は認めなかった。これは移植した骨髄細胞が機能的な肝細胞に分化するための環境や期間が十分でなかったためと推測される。

一方、HIR モデルでは、骨髄細胞移植によってドナー骨髄細胞由来 DPPIV+肝細胞をレシピエント肝内に認め、生存期間を有意に延長した。これは、骨髄細胞が肝細胞に分化するポテンシャルを有し、治療に貢献できることを示すものである。本研究では生存期間の延長に関する直接的な機序は明らかにならなかったが、骨髄細胞移植が肝細胞の再生だけでなく、肝内の微小環境の改善にも貢献したためと推測される。近年、骨髄細胞が肝の線維化を抑制するという報告もあり、このような肝内の環境を改善することで効率よく肝の機能的再生を促しているものと考えられる。これらのことから、急速に致死的とならない程度の肝障害は、十分に骨髄細胞移植の治療対象になりうることを示された。

また、HIR モデルとは肝切除により肝再生の促進因子を誘発しつつ、残肝の放射線照射によりレシピエント自身の肝細胞増殖を抑えるモデルである。このモデルでは移植したドナー細胞のみに増殖のアドバンテージがかかり、選択的に増殖するため、細胞治療を臨床応用するのに有用な手段と考えられる。例えば、先天性代謝疾患などの肝不全に対して正常な肝細胞を移植するには膨大な肝細胞を必要とするが、骨髄細胞移植など少数の幹細胞を移植し、移植した細胞由来の肝細胞が選択的に増殖できれば、これらの疾患に対する効果的な治療になりうる。本研究の成果は今後の幹細胞による肝再生医療研究に大きく貢献するものである。