

氏名	おがさわら ひろゆき 小笠原 弘之
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成31年3月27日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学 専攻
学位論文題目	肝細胞移植における至適移植部位に関する検討
論文審査委員	主査 教授 亀井 尚 教授 後藤 昌史 教授 木村 芳孝 教授 岡田 克典

論文内容要旨

【研究背景】肝細胞移植においては、門脈移植が現行の世界的な標準法である。肝細胞移植と共通面を多くもつ似通った細胞移植治療である脾臓移植では、強力な原始免疫反応である instant blood-mediated inflammatory reaction (IBMIR) がグラフト生着の妨げとなる大きな原因と考えられており、IBMIR を回避するために門脈以外の部位への移植が検討され、良好な成績が報告されている。しかしながら、肝細胞移植では、移植部位に関する検討はほとんど行われていない。そこで本研究では肝細胞移植における至適移植部位に関する検討を行った。

【研究方法】本検討では、門脈(門脈群)、脾臓赤脾内(脾実質群)、肝左葉実質(肝実質群)、背部皮下(皮下群)、腹腔内(腹腔内群)、腎皮膜下(腎皮膜下群)、大腿部筋肉(筋肉群)、鼠径部皮下脂肪組織(鼠径部群)、大網の9ヶ所を検討部位として設定し、 1.0×10^7 個の肝細胞を各部位に移植した。大網への移植は、肝細胞を単独(大網トロンビン無群)で移植した群と肝細胞固定用にトロンビンを使用した群(大網トロンビン有群)の二群を設定した。各移植部位における移植効率の検討では、肝細胞のドナーとして F344 ラットを使用し、レシピエントとして F344 を背景にもつ近交系の無アルブミンラットを使用した。移植前及び移植後 2 週間おきに採取した血液の血清アルブミン濃度の測定と、移植後 10 週間の各移植部位検体のアルブミン染色と terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated uridine triphosphate nick end labeling (TUNEL) 染色を行い検討した。門脈群、脾実質群に関しては移植後 4 週間の移植部位組織検体を採取し、アルブミン染色、TUNEL 染色、5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 染色を行い、グラフトの増殖能に関する評価を行った。また、門脈群のうち血清アルブミン濃度が良好に保持されていた 3 個体に関しては移植後 72 週間まで観察を行い、血清アルブミン濃度の推移とアルブミン染色、BrdU 染色での評価を行った。また、門脈群、脾実質群、肝実質群に関してルシフェラーゼトランスジェニックラットを用いて移植後のグラフト分布に関する検討を行った。移植後 2 時間、2 週間、4 週間のグラフトの体内分布と残存率を In Vivo Imaging System を用いて評価した。さらに、脾実質群に対する脾臓摘出の影響を検討するために、移植後 2 週間に脾臓摘出を行い、その後の血清アルブミン濃度の上昇率に関して脾臓摘出を行わなかった脾実質群と比較検証した。

【研究結果】各移植部位における移植効率の検討では、門脈群の血清アルブミン濃度が、他の移植群に比べて有意に高値を示した ($P < 0.0001$)。アルブミン染色陽性細胞は門脈群、脾実質群では容易に検出できたが、他の移植部位では極めて困難であった。生着グラフトに対する BrdU 陽性肝細胞の割合は、脾実質群の肝臓 ($12.0\% \pm 3.0\%$) が門脈群 ($11.6\% \pm 1.0\%$) と同等であり、脾実質群の脾臓 ($3.0\% \pm 0.5\%$) に対して有意に高値を示した ($P = 0.002$)。移植部位と移植グラフ

(書式12)

トの分布に関する検討では、門脈群ではほぼ全量が肝臓内に分布することが判明した。また、脾実質群では脾臓と肝臓に分布していたが、多くのグラフトが経門脈的に肝臓に移動していた。さらに、脾実質群の脾臓摘出による影響の検討では、脾臓摘出の有無で血清アルブミン濃度上昇率の差は認められなかったことより、脾実質群におけるグラフト機能は肝臓に移動した肝細胞に極めて大きく依存していることが示された。

【結論】本検討により、門脈移植による肝実質が肝細胞移植における至適移植部位であることが判明した。

審査結果の要旨

博士論文題目 肝細胞移植における至適移植部位に関する検討.....

所属専攻・分野名 医科学専攻 消化器外科学分野.....

学籍番号..... B5MD5024 氏名..... 小笠原 弘之.....

肝細胞移植においては、門脈移植が現行の世界的な標準法である。肝細胞移植と共通面を多くもつ似通った細胞移植治療である脾臓移植では、強力な原始免疫反応である IBMIR がグラフト生着の妨げとなる大きな原因と考えられており、IBMIR を回避するために門脈以外の部位への移植が検討され、良好な成績が報告されている。しかしながら、肝細胞移植では、移植部位に関する検討はほとんど行われていない。そこで本研究では肝細胞移植における至適移植部位に関する検討を行った。

本検討では、門脈、脾臓赤脾内、肝左葉実質、背部皮下、腹腔内、腎皮膜下、大腿部筋肉、鼠径部皮下脂肪組織、大網の9ヶ所を検討部位として設定した。各移植部位における移植効率の検討では、ドナーとして F344 ラットを使用し、レシピエントとして無アルブミンラットを使用した。血清アルブミン濃度の測定と、各移植部位検体のアルブミン染色と TUNEL 染色を行い検討した。門脈群、脾実質群に関しては BrdU 染色を行い、グラフトの増殖能に関する評価を行った。また、門脈群、脾実質群、肝実質群に関してルシフェラーゼトランスジェニックラットを用いて移植後のグラフト分布を IVIS で検討した。さらに、脾実質群に対する脾臓摘出の影響を検討した。

各移植部位における移植効率の検討では、門脈群の血清アルブミン濃度が、他の移植群に比べて有意に高値を示した。生着グラフトに対する BrdU 陽性肝細胞の割合は、脾実質群の肝臓が門脈群と同等であり、脾実質群の脾臓に対して有意に高値を示した。移植部位と移植グラフトの分布に関する検討では、門脈群ではほぼ全量が肝臓内に分布することが判明した。また、脾実質群では脾臓と肝臓に分布していたが、多くのグラフトが経門脈的に肝臓に移動していた。さらに、脾実質群の脾臓摘出による影響の検討では、脾臓摘出の有無で血清アルブミン濃度上昇率の差は認められなかったことより、脾実質群におけるグラフト機能は肝臓に移動した肝細胞に極めて大きく依存していることが示された。

本検討により、門脈移植による肝実質が肝細胞移植における至適移植部位であることが判明した。

本研究は、肝細胞移植における至適移植部位をラット移植実験で確定したものであり、オリジナリティが高く、今後の肝細胞移植医療の礎をなす重要な研究である。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。