

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08622

研究課題名(和文)胆汁中エクソソームmRNA、miRNAを用いた移植後拒絶反応診断

研究課題名(英文)Diagnosis of the acute rejection using miRNAs in the bile juice

研究代表者

菅原 寧彦 (Sugawara, Yasuhiko)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授

研究者番号：90313155

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 600,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓移植術後の移植肝の胆管に挿入された外瘻チューブから胆汁を7、10、14、17、21、24、28、35、38、42病日に1ml、サンプリングした。胆汁中からmiR221を抽出した。2019年6月から2020年10月まで教室で施行した生体肝移植症例のうち同意が得られた11例を対象とした。11例のうち、肝生検にて拒絶反応の診断ができた症例は2例で、各々11病日、19病日に診断された。miR221はこれらの症例で、各々7病日、14病日からレベルが低下していた。拒絶反応を認めなかった9例では、経過観察中、いずれもmiR221の有意な低下を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周術期にはグラフトは再生しているためmiR221が発現亢進している。拒絶反応があり、再生のプロセスが阻害されると、miR221の発現も抑えられる可能性がある。胆汁中のmiR221レベルの測定で、肝移植後の拒絶反応の診断ができる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The 1 ml bile juice was sampled from the tube inserted to the bile duct of the transplanted liver on the 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28, 35 and 42 days after the operation. The subject was the 11 patients who underwent living donor liver transplantation from June 2019 to October 2020 and was obtained the informed consent. Of the patients, two were complicated with the acute cellular rejection on the 11 and 10 postoperative days, respectively. The miR221 levels decreased significantly on the 7 and 14 postoperative days, respectively. There were no significant changes in the miR221 levels in the other 9 patients during the observation period.

研究分野：肝移植

キーワード：拒絶反応

## 1. 研究開始当初の背景

### 研究の学術的背景

肝臓移植術後の移植肝は拒絶反応、感染症、虚血再灌流障害、原疾患再発、過小グラフト症候群などの様々な機能的変化や病態を示す。それらを正確に診断し、的確な治療方針を決定するのは容易ではない。現状では、臨床症状の把握、血液生化学的検査と画像診断などが行われ、それでも診断が困難な場合は肝生検が施行される。しかし肝生検は出血・感染リスクがあり、特に移植後早期の患者にとっては侵襲的な検査であるものの万能ではなく、最終診断が困難な場合も少なくない。そこで、新たな非侵襲的な検査方法が待望されている。

エクソソームとは40-100nmの大きさの脂質2重層に包まれた小さな膜小胞で、様々な細胞から分泌されている。近年、Valadiらが、exosome中にmRNAとmiRNAが存在していることを発見して以降、エクソソーム研究が注目を浴びている。しかしその研究対象は血液や尿などで、胆汁に注目している研究は皆無に近い。現在までに、不安定で微量なmRNAに関する解析かつ肝移植領域の報告は皆無である。当科の肝臓移植手術では、移植肝の胆管に外瘻チューブを挿入することを標準術式としているため、術後、胆汁が持続的に体外に排出される。チューブは、通常3ヶ月程度留置されるので、術後急性期ばかりでなく、移植後期の胆汁サンプリングも容易であり、安全かつ非侵襲的な採取が連日可能である。

## 2. 研究の目的

胆汁中のエクソソーム mRNA および miRNA の解析は未だ報告がなく、世界に先駆けて報告している。移植エクソソームに関する報告も少ないのが現状である。本研究により移植肝の病態解析が実現できれば、その臨床的な診断意義は非常に大きく、早期治療によるグラフトロス低下につながり、肝臓移植の成績向上に寄与する事ができると考える。エクソソームの研究進展は、診断

だけでなく治療にも新しい展開をもたらすことができると期待される。

これまで、肝切後の肝再生に miR221 の発現が亢進していることを報告した。生体肝移植では移植されるグラフトは部分的な肝であり、周術期には常に再生しているため miR221 が発現亢進している可能性がある。拒絶反応などがあり、再生のプロセスが阻害されると、miR221 の発現も抑えられる可能性がある。このような、再生・拒絶に特異的な miRNA を胆汁・血液中で同定することは非侵襲的な診断を可能にし、これまで肝生検に依存してきた診断系を変えることができるかもしれない

### 3．研究の方法

肝臓移植術後の移植肝の胆管に挿入された外瘻チューブから胆汁を 7、10、14、17、21、24、28、35、38、42 病日に 1ml、サンプリングした。胆汁中から miR221 を抽出した。2019 年 6 月から 2020 年 10 月まで教室で施行した生体肝移植症例のうち同意が得られた 11 例を対象とした。

### 4．研究成果

11 例のうち、肝生検にて拒絶反応の診断ができた症例は 2 例で、各々 11 病日、19 病日に診断された。拒絶の程度は各々、P2V1B1、P1B1V2 の 5 点であった。miR221 はこれらの症例で、各々 7 病日、14 病日からレベルが低下していた。拒絶反応を認めなかった 9 例では、経過観察中、いずれも miR221 の有意な低下を認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kadohisa M, Inomata Y, Uto K, Hayashida S, Ohya Y, Yamamoto H, Sugawara Y, Hibi T.	4. 巻 52
2. 論文標題 Impact of Donor Age on the Outcome of Living-donor Liver Transplantation: Special Consideration to the Feasibility of Using Elderly Donors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transplantation	6. 最初と最後の頁 23-25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamamoto H, Sambommatsu Y, Ibuki S, Shimata K, Sugawara Y, Hibi T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Long-term Outcomes of Living Donor Liver Transplantation in Patients With a Prior History of Nonhepatic Malignancy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience Trends	6. 最初と最後の頁 42-47
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5582/bst.2019.01313	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三本松 譲, 成田 泰子, 本田 正樹, 嶋田 圭太, 伊吹 省, 磯野 香織, 林田 信太郎, 大矢 雄希, 山本 栄和, 菅原 寧彦, 猪股 裕紀洋, 日比 泰造
2. 発表標題 門亢症と肝移植 生体肝移植後の門脈圧亢進症 門脈ステント留置を行った症例の検討
3. 学会等名 日本門脈圧亢進症学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉井 大貴 (Yoshii Daiki) (00792582)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特別研究員  (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	日比 泰造  (Hibi Taizo)  (10338072)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授    (17401)	
研究分担者	大矢 雄希  (Ohya Yuki)  (90613422)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教    (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関