

機関番号：17301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591529

研究課題名 (和文) 自己肝細胞バンキングによる肝移植後の自己肝復元の試み

研究課題名 (英文) Restoration of self liver using transplantation of autologous cryopreserved hepatocytes.

研究代表者 江口 晋 (EGUCHI SUSUMU)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：80404218

研究成果の概要 (和文) : 本年度は昨年度の結果をもとに、ヒト肝細胞を購入し、培養後の移植を試みたが、viabilityが低く、移植に耐えうる細胞数を確保することが困難であった。そこで、主に転移性肝癌症例での肝切除摘出肝から、コラゲナーゼを注入し、肝細胞分離を試み、その条件設定を確立した。その細胞を凍結保存し、解凍、培養後にまずはNudeマウス、さらにはSCIDマウスに移植を試みた。肝内のヒト肝細胞の増殖を促すため、当科オリジナルである肝X線照射を施行し、さらに門脈分枝ligationを行い、移植肝へのgrowth advantageを寄与した。結果的に、肝細胞移植後16週までに95%の置換を得ることができた。また、移植肝細胞はレシピエント肝細胞を置換後、糖新生酵素の正常発現を認め、gap junctionなどの回復も観察された。

研究成果の概要 (英文) : This year we isolated human hepatocytes from resected liver specimen from patients with metastatic liver cancer. After some modification of the method of isolation, we could obtain intact human hepatocytes for transplantation. We transplanted those hepatocytes in nude mice and SCID mice. In addition, we used our original method to proliferate transplanted hepatocyte using radiation on host liver. Using those technique, after growth advantage, transplated human hepatocytes proliferate very well until replace a host liver to 95% By the time of 16 weeks. Around transplanted human hepatocytes, gap junction and glycogenesis were observed. Although auto transplantation has not been performed, concept of hepatocyte banking and retransplantation could be a good therapeutic choice for end stage liver diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：消化器外科

科研費の分科・細目：

キーワード：肝細胞、幹細胞、自己再生型

1. 研究開始当初の背景
国内外で実験動物を用いた肝細胞移植の実験は以前より行われ、その治療効果は証明されてい

る。しかし、その臨床応用は遅々として進んでいない。その原因の一つにその対象疾患と

されてきた遺伝性肝疾患や急性肝不全が稀有であることが挙げられる。また、細胞ドナー不足の現状より、臓器移植ですらドナーが不足している折、細胞移植へのドナーは脳死移植では回ってくることはありえない。また、生体ドナーから細胞移植のみのドネーションを得ることは現実的に困難であると考えられる。そこで、従来より当科にて研究を継続し報告してきたヒト摘出肝よりの肝細胞分離、培養、凍結保存、肝細胞移植など様々なテクニックを用い、総合的に患者治療を行う。当研究は現在、別々に発展してきている肝臓器移植と肝細胞移植の接点となり、今後の再生医療の発展に貢献しうると考えられる。

2. 研究の目的

肝細胞単独では自己増殖や分化の問題があるため、肝細胞と組織の幹細胞を組み合わせた組織片を作成しその機能を検証する。

3. 研究の方法

A) 肝細胞培養、シート作製

肝内のヒト肝細胞の増殖を促すため、当科オリジナルである肝X線照射を施行し、さらに門脈分枝ligationを行い、移植肝へのgrowth advantageを寄与した。結果的に、肝細胞移植後16週までに95%の置換を得ることができた。また、移植肝細胞はレシピエント肝細胞を置換後、糖新生酵素の正常発現を認め、gap junctionなどの回復も観察された。

4. 研究成果

(意義、重要性、問題点)

今回の研究ではxeno系で行い、auto系での検討まで施行はできなかったが、今後のauto系での確立に向けての取りかかりができた。本研究により今後の病的肝からの細胞分離、その後のバンキング正常肝細胞での置換の可能性が十分に示唆される結果となった。臓器移植ドナー数が少ない本邦において、本療法が確立することができれば、特にC型肝炎などの患者では、肝細胞

バンキングによる将来の硬変化への不安を取り除くことができると考えられる。今後の臨床応用に向けての、第一歩が踏み出せたと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Eguchi S, Takatsuki M, Yamanouchi K, Kamohara Y, Tajima Y, Kanematsu T. Regeneration of graft livers and limited contribution of extrahepatic cells after partial liver transplantation in humans. *Digestive Diseases and Sciences*. 査読有, 55:820-5, 2010.
- ② Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Tomonaga T, Muraoka I, Kanematsu T. Predictor for histological microvascular invasion of hepatocellular carcinoma: a lesson from 229 consecutive cases of curative liver resection. *World Journal of Surgery*. 査読有, 34:1034-8, 2010.
- ③ Chiba K, Isoda M, Chiba M, Kanematsu T, Eguchi S. Significance of PET/CT in determining actual TNM staging for Patients with various lung cancers. *International Surgery*. 査読有, 95:197-204, 2010.
- ④ Miyazaki K, Eguchi S, Tomonaga T, Inokuma T, Hamasaki K, Yamanouchi K, Takatsuki M, Kamohara Y, Tajima Y, Kanematsu T. The Impact of the Intra-Abdominal Space on Liver Regeneration After a Partial Hepatectomy in Rats. *Journal of Surgical Research*. 査読有, Epub ahead of print, 2010.
- ⑤ Yamanouchi K, Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Kamohara Y, Miyazaki K, Hamasaki K, Tajima Y, Kanematsu T. Management of fungal colonization and infection after living donor liver transplantation. *Hepato-gastroenterology*. 査読有, 57:852-7, 2010.
- ⑥ Yanaga K, Eguchi S, Takatsuki M, Okudaira S, Tajima Y, Kanematsu T. Two-staged living donor liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Hepato-gastroenterology*. 査読有, 57:146-8, 2010.
- ⑦ Hamada T, Eguchi S, Takatsuki M, Yamanouchi K, Sugiyama N, Kawashita Y,

- Okudaira S, Tajima Y, Ishii T, Kanematsu T. Low-dose recombinant human hepatocyte growth factor enhances effect of hepatocyte transplantation in rats treated with retrorsine. The American Journal of Surgery. 査読有, 57; 237-44, 2010.
- ⑧ Nakamura H, Ichikawa T, Nakamura T, Kawakami A, Iwamoto N, Matsuzaki T, Miyaaki H, Yamasaki S, Ida H, Eguchi S, Hayashi T, Nakao K, Kanematsu T, Eguchi K. Macrophage-dominant sialadenitis in human T-cell leukemia virus type I-associated cholangiopathy after living-donor liver transplantation. Transplantation Proceedings. 査読有, 42;2797-9, 2010.
- ⑨ Takatsuki M, Eguchi S, Yamanouchi K, Hidaka M, Soyama A, Miyazaki K, Tajima Y, Kanematsu T. The outcomes of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection after living donor liver transplantation in a Japanese center. Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences. 査読有, 17;839-43, 2010.
- ⑩ Eguchi S, Soyama A, Mergental H, van den Berg AP, Scheenstra R, Porte RJ, Slooff MJ. Honoring the contract with our patients: outcome after repeated re-transplantation of the liver. Clinical Transplantation. 査読有, Epub ahead of print, 2010.
- ⑪ Mochizuki S, Kawashita Y, Eguchi S, Takatsuki M, Yamanouchi K, Tokai H, Hidaka M, Soyama A, Nagayoshi S, Kanematsu T. Liver repopulation by transplanted hepatocytes in a rat model of acute liver failure induced by carbon tetrachloride and a partial hepatectomy. Annals of Transplantation. 査読有, 15; 49-55, 2010.
- ⑫ Yamanouchi K, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Kanematsu T, Eguchi S. Significance of serum β -D-glucan levels in recipients of living donor liver transplantation. Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences. 査読有, Epub ahead of print, 2010.
- [学会発表] (計 10 件)
- ① 江口 晋、腹腔鏡アプローチがもたらす生体肝移植の新たな展開、第 64 回国立病院総合医学会、2010. 11. 26-27、福岡。
- ② 江口 晋、高槻光寿、日高匡章、曾山明彦、小坂太一郎、村岡いづみ、朝長哲生、足立智彦、黒木 保、兼松隆之、生体肝移植での肝
- 静脈再建 -標準化のための工夫-、第 28 回日本肝移植研究会、2010. 7. 1-2、広島。
- ③ 猪熊孝実、江口 晋、村岡いづみ、朝長哲生、濱崎幸司、宮崎健介、曾山明彦、日高匡章、山之内孝彰、高槻光寿、黒木保、谷口 堅、蒲原行雄、田島義証、兼松隆之、ラット術後肝不全モデルに対する curcumin の抗酸化作用についての実験的検討、第 110 回日本外科学会定期学術集会、2010. 4. 8-10、名古屋。
- ④ 江口 晋、高槻光寿、日高匡章、曾山明彦、朝長哲生、村岡いづみ、足立智彦、黒木 保、兼松隆之、生体肝移植後、免疫抑制剤減量症例における拒絶反応のモニタリング: mmuKnow[®] による免疫活性測定の意味、第 46 回日本移植学会総会、2010. 10. 20-22、京都。
- ⑤ 江口 晋、高槻光寿、兼松隆之、生体肝移植ドナーの中長期予後-S F 36 を用いた health -related QOL 評価を含めて-第 96 回日本消化器病学会総会、2010. 4. 22-24、新潟。
- ⑥ 江口 晋、高槻光寿、日高匡章、曾山明彦、村岡いづみ、小坂太一郎、黒木 保、谷口堅、兼松隆之、生体肝移植における血流最大保持を目指した胆道再建法-ドナー手術からチューブプリントの利用、抜去までの工夫-、第 22 回日本肝胆膵外科学会学術集会、2010. 5. 26-28、仙台。
- ⑦ 高槻光寿、江口 晋、日高匡章、曾山明彦、猪熊孝実、宮崎健介、朝長哲生、村岡いづみ、黒木 保、北里 周、足立智彦、谷口堅、兼松隆之、生体肝移植での肝拡大左葉グラフト採取における胆管切離の工夫、第 22 回日本肝胆膵外科学会学術集会、2010. 5. 26-28、仙台。
- ⑧ 江口 晋、高槻光寿、日高匡章、曾山明彦、藤田文彦、虎島泰洋、望月聡之、宮崎健介、足立智彦、黒木 保、兼松隆之、

大腸癌切除後の補助化学療法中に出現した
肝転移切除例の予後、第46回日本肝癌研究
会、2010.7.8-9 大阪。

- ⑨ Eguchi S, Takatsuki M, Soyama A, Hidaka
M, Muraoka I, Kosaka T, Kanematsu T.
The effect of donor age on the outcome
of living donor liver transplantation.
- Can the grafted liver become Rejuvena
ted? -. The international liver transpl
antation Society 16th Annual internation
al congress 2010.06.16-19, Hong Kong,
China.
- ⑩ Takatsuki M, Eguchi S, Hidaka M,
Soyama A, Miyazaki K, Inokuma T,
Tomonaga T, Muraoka I, Kanematsu T.
A single center experienc of ABO-Incom
patible living donor liver transplanta
tion. The international liver transplan
tation society 16th Annual internation
al congress. 2010.06.16-19, Hong Kong,
China.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 江口 晋 (EGUCHI SUSUMU)
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：80404218

(2) 研究分担者 兼松隆之
(KANEMATSU TAKASHI)
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科・
教授
研究者番号：40128004