

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08967

研究課題名(和文) 肝移植の成績向上を目指したリキッドバイオプシー技術(ドナー由来DNA解析)の開発

研究課題名(英文) Development of liquid biopsy technology (donor-derived DNA analysis) aimed at improving the results of liver transplantation

研究代表者

篠田 昌宏 (Shinoda, Masahiro)

国際医療福祉大学・医学部消化器外科・教授

研究者番号：50286499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本の肝移植(LTx)における移植片損傷の診断におけるドナー由来遊離DNA(dd-cfDNA)の使用を評価した。LTx後、dd-cfDNAレベルは有意に上昇した。急性拒絶反応(AR)中に得られた11のサンプルのdd-cfDNAレベルは、プロトコル生検(PB)中に得られたものよりも有意に高かった。診断能のROC曲線分析では、AR対PBのAUCは0.975であった。AR中のdd-cfDNAレベルはより早く上昇し、AST/ALTよりもRAIとより強く相関していた。ドナー由来の遊離DNAは、LTxにおける移植片損傷を検出するための感度の高いバイオマーカーとして機能する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回われわれは肝臓移植後患者を対象とした研究で、日本で初めてとなるドナー由来cell free DNAに関する研究を行った。肝移植における急性拒絶反応の診断にドナー由来遊離DNA(dd-cfDNA)の検出が有用である可能性が示唆され、本法が臨床的に応用されれば従来の侵襲的経皮的肝生検の代わりにリキッドバイオプシーで非侵襲的に拒絶を診断できる可能性がある。また、心、肺、腎、小腸、脾など多臓器に応用し有用性を示すことができれば社会的意義は絶大となる。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the use of donor derived cell free DNA (dd cfDNA) in diagnosing graft injuries in Japanese liver transplantation (LTx). A total of 321 samples from 10 newly operated LTx recipients were collected. Fifty five samples from 55 recipients were collected during protocol biopsies (PB), whereas 36 samples from 27 recipients were collected during event biopsies, consisting of 11 biopsy proven acute rejection (AR), 20 acute dysfunctions without rejection (ADWR), and 5 chronic rejections. The dd cfDNA levels were elevated significantly after LTx. The dd cfDNA levels were significantly higher in the 11 samples obtained during AR than those obtained during PB. The ROC curve analysis of diagnostic ability yielded areas under the curve of 0.975 for AR versus PB. The dd cfDNA levels during AR were elevated earlier and correlated more strongly with the RAI than AST/ALT. Donor derived cell free DNA serves as a sensitive biomarker for detecting graft injuries in LTx.

研究分野：移植医療

キーワード：リキッドバイオプシー 拒絶反応 肝移植

1. 研究開始当初の背景

拒絶反応の検知は、肝移植においては肝逸脱酵素 (AST, ALT) 臨床症状 (発熱、倦怠感など) 超音波ドプラー検査による肝血流低下などで評価するのが一般的だが、経皮的針生検による診断が最も信頼性の高い方法とされている。肝逸脱酵素 (AST) は、肝以外からの産生や早期検知の観点から十分な有用性を見いだせない。臨床症状や肝血流は、グラフト特異的検査とは言い難い。経皮的針生検は、侵襲的であるものの最も信頼性の高い検査方法であるが、異常を早期に検出する方法とはいえ、頻回の実施も現実的ではない。グラフトの異常を早期に正確に検出する血清バイオマーカーの確立が切望されていた。

2. 研究の目的

本研究では、肝臓移植における ddcfDNA のバイオマーカーとしての有用性を評価する。すなわち、当施設の生体・脳死移植患者の術後血清を経時的に採取、ddcfDNA の変動を解析するとともに、術後の臨床経過と統合解析を行い、拒絶、薬剤性肝障害、血流障害、原疾患の再発等を早期かつ正確かつ簡便に診断する方法を開発した。

3. 研究の方法

ddcfDNA は、日本人集団向けの SNP パネルを使用した独自のプラットフォームで定量化した。10 人の新規手術、55 人の移植後プロトコル生検、27 人の移植後イベント生検の各レシピエントからサンプルを収集した。

4. 研究成果

結果: ddcfDNA レベルは肝移植直後に有意に増加し (> 80%)、1-2 週間以内にベースラインレベル (< 5%) まで減少した (図 1)。急性拒絶反応、慢性拒絶反応、および拒絶反応のない急性機能不全の ddcfDNA レベルは、プロトコル生検のレベルよりも有意に高かった (図 2)。急性拒絶反応の診断精度は、ddcfDNA と拒絶反応活性指数 (RAI) スコアの相関分析 ($r = 0.740$) だけでなく、急性拒絶反応とプロトコル生検の ROC 分析 ($AUC=0.975$) でも示された (図 3)。ドナー由来の遊離 DNA は、LTx における移植片損傷を検出するための感度の高いバイオマーカーとして機能することが示唆された。

図 1

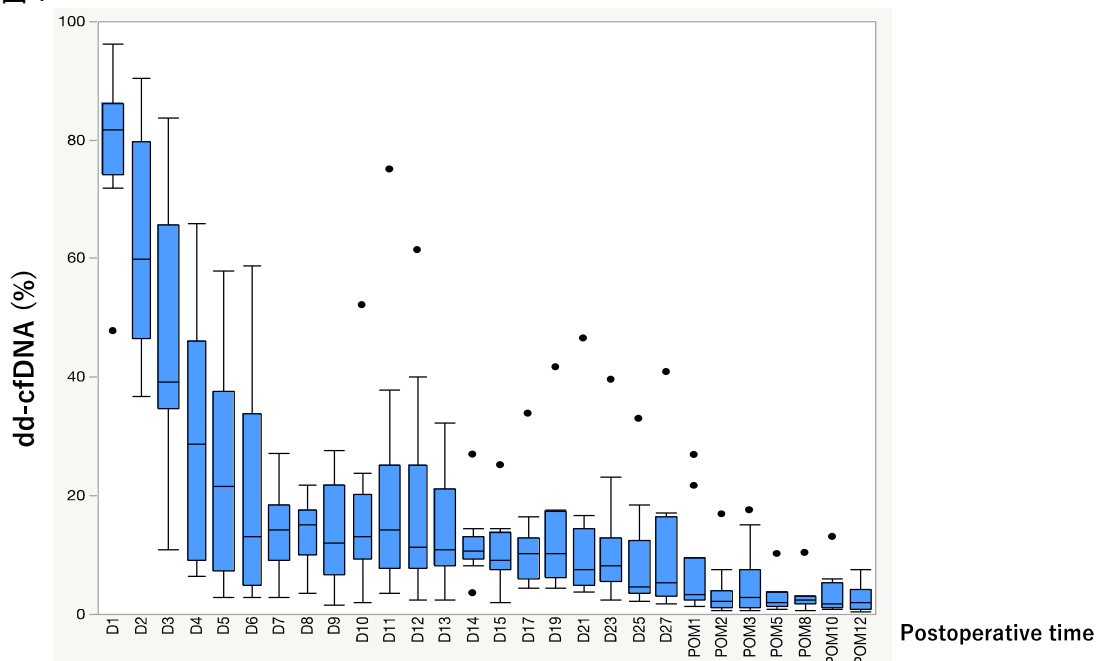


图 2

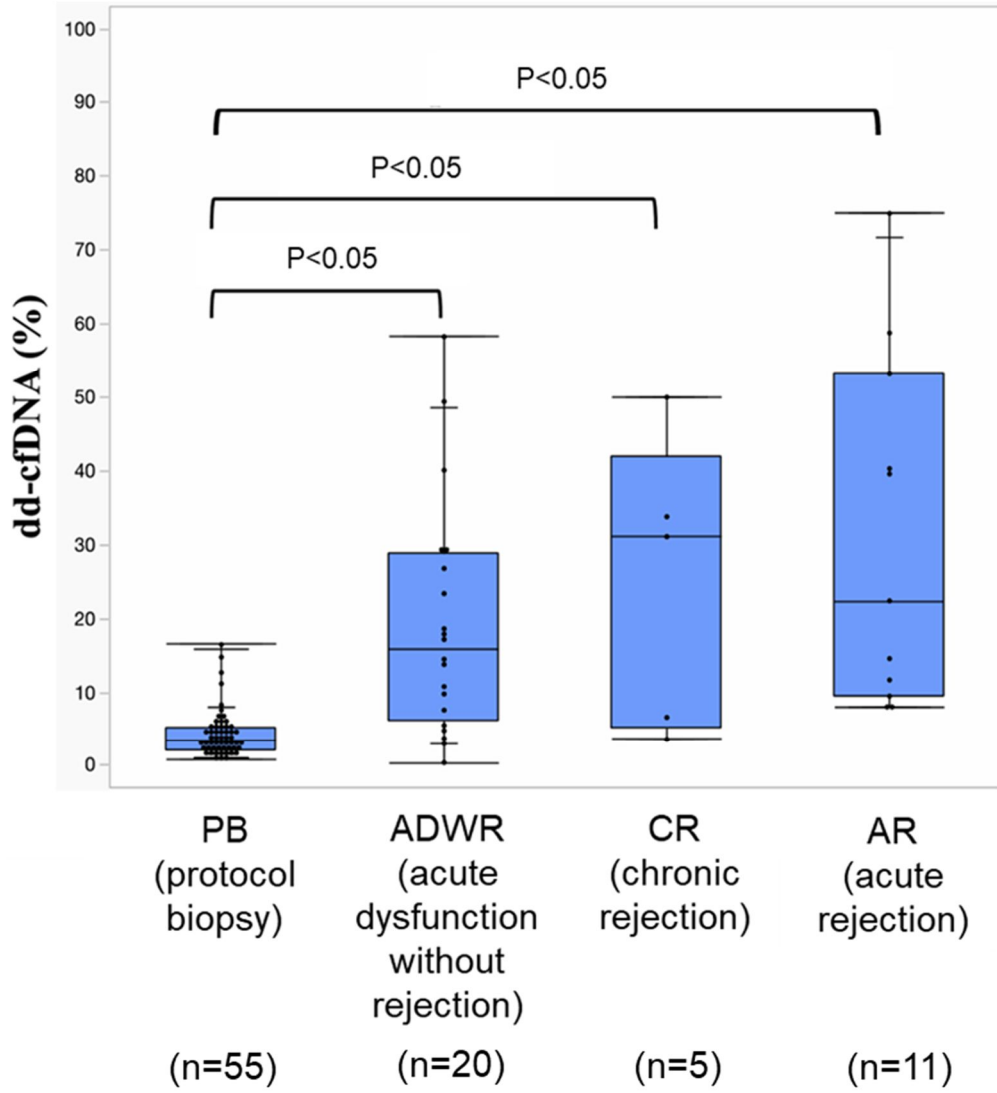
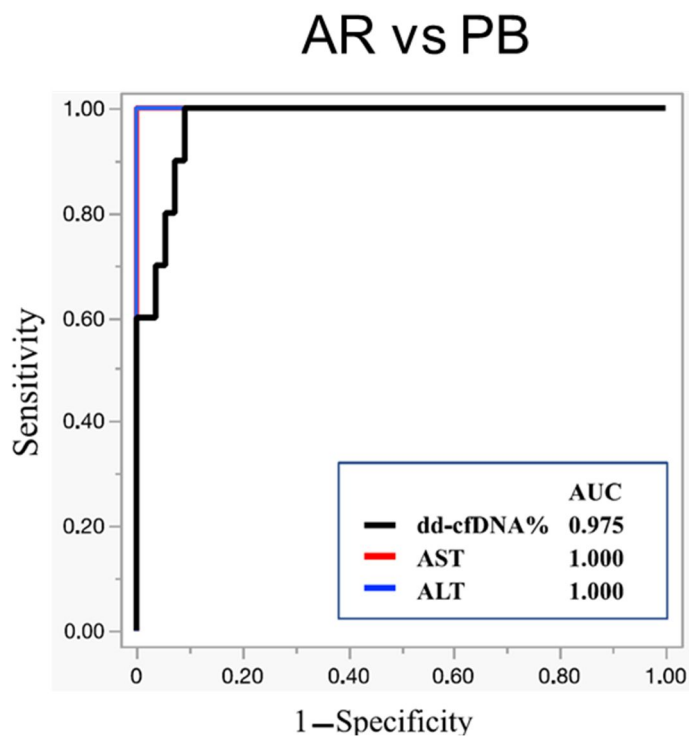


图 3



5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kanamori Hiroki, Yamada Yohei, Ito Yoko, Shirotsaki Koji, Yamagishi Satoko, Maeda Yutaro, Kudo Yumi, Umeyama Tomoshige, Takahashi Nobuhiro, Kato Mototoshi, Hasegawa Yasushi, Matsubara Kentaro, Shinoda Masahiro, et al.	4. 巻 54
2. 論文標題 Noninvasive graft monitoring using donor derived cell free DNA in Japanese liver transplantation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 300 ~ 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13978	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 金森 洋樹、井ノ上 逸朗、山田 洋平、長谷川 康、篠田 昌宏、尾原 秀明、藤野 明浩、北川 雄光、光永 滋樹、西郷 健一	4. 巻 31
2. 論文標題 臓器移植におけるLiquid Biopsy (ドナー由来遊離DNA断片測定)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Organ Biology	6. 最初と最後の頁 017 ~ 023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11378/organbio.31.017	査読の有無 無
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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 篠田 昌宏
2. 発表標題 肝移植におけるドナー由来cell free DNA解析の試みと展望
3. 学会等名 国際医療福祉大学学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金森洋樹
2. 発表標題 肝移植と小腸移植におけるドナー由来cell free DNA解析の試みと展望
3. 学会等名 日本小児外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 篠田 昌宏, 金森 洋樹, 山田 洋平, 長谷川 康, 井ノ上 逸朗, 尾原 秀明, 北川 雄光, 黒田 達夫.
2. 発表標題 肝移植におけるドナー由来cell free DNA解析の試みと展望
3. 学会等名 国際医療福祉大学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金森 洋樹, 山田 洋平, 長谷川 康, 篠田 昌宏, 井ノ上 逸朗, 尾原 秀明, 北川 雄光, 黒田 達夫.
2. 発表標題 移植医療におけるリキッドバイオプシー 肝移植と小腸移植におけるドナー由来cell free DNA解析の試みと展望.
3. 学会等名 日本移植学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masahiro Shinoda, Yohei Yamada, Hiroki Kanamori, Yasushi Hasegawa, Hideaki Obara, Akihiro Fujino, Kenichi Saigo, Shigeki Mitsunaga, Ituro In
2. 発表標題 Non-invasive diagnosis of graft damage focusing on differences in DNA between donor and recipient ~ progress of liquid biopsy technique in liver transplantation and future prospects ~
3. 学会等名 第36回肝胆膵外科学会
4. 発表年 2024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	山田 洋平	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師	
	(Yamada Yohei)		
	(60383816)	(32612)	

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	井ノ上 逸朗 (Inoue Ituro) (00192500)	国立遺伝学研究所・ゲノム・進化研究系・教授 (63801)	
研究分担者	高原 武志 (Takahara Takeshi) (80453306)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	
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	河地 茂行 (Kawachi Shigeyuki) (80234079)	東京医科大学・医学部・主任教授 (32645)	

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