

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590424

研究課題名(和文)肝移植後の肝細胞キメリズムの成立とグラフトの老化

研究課題名(英文)Hepatocyte chimerism after liver transplantation and allograft aging

研究代表者

宮川 文(Miyagawa-Hayashino, Aya)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・特定准教授

研究者番号：90432385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：肝移植後の免疫寛容を誘導する因子の同定は世界的に試みられているが、免疫寛容に至る理由は不明である。患者由来の免疫担当細胞による拒絶が回避されるのは、グラフトにレシピエント細胞が共存するキメリズムの成立も一因と考え、肝移植後10年以上経過した患者のうち、免疫寛容の状態である13例および慢性拒絶を示す11例において、マイクロサテライト解析および異性間移植では性染色体による in situ hybridization にて、肝細胞キメリズムを検討した。免疫寛容群と慢性拒絶群とで肝細胞キメリズムの成立は予後とは関連しないと考察した。

研究成果の概要(英文)：Microchimerism after liver transplantation is considered to promote graft tolerance or tissue repair, but its significance is controversial. By using multiplex polymerase chain reaction of short tandem repeat loci after laser capture microdissection of hepatocyte nuclei and fluorescence in situ hybridization of XY chromosome, we compared the proportions of recipient-derived hepatocytes in long-term stable liver allografts and late dysfunctional allografts. In conclusion, hepatocyte chimerism was a constant event. The extent of engraftment of recipient-derived hepatocytes does not seem to correlate with the degree of hepatic injury in long-term liver allografts.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：肝移植 免疫寛容 キメリズム 慢性拒絶

1. 研究開始当初の背景

肝移植後の免疫寛容を誘導する因子の同定は世界的に試みられているが、免疫寛容に至る理由は不明である。患者由来の免疫担当細胞による拒絶が回避されるのは、グラフトにレシピエント細胞が共存するキメリズムの成立も一因と考えられるが、肝細胞を厳密に選択して、グラフトのキメリズムを検討した報告はほとんどなく、肝細胞キメリズムと予後との関係は明らかになっていない。

2. 研究の目的

肝移植後長期経過した例のうち、肝機能が安定し、免疫抑制剤を減量中止できた免疫寛容群と慢性拒絶群において、肝細胞キメリズムの有無を調べ、予後との関連を考察する。

3. 研究の方法

肝移植後 10 年以上経過した患者のうち、免疫寛容の状態である 13 例と慢性拒絶を示す 11 例において、レーザーキャプチャーマイクロダイセクションを用いてグラフト肝生検の肝細胞核を厳密に選択し、抽出した DNA にて、マイクロサテライト 15 ロークアの自動解析 (AmpFISTR Identifiler PCR Amplification Kit, Life Technologies) を行った。移植時に採取したドナー肝臓および患者の肝不全のため摘出された肝臓も同時にタイピングを行い、グラフトに患者由来の肝細胞の有無を調べた。さらに、母から男児への異性間移植例においては、XY FISH 法にてグラフトに肝細胞核に Y 染色体の有無を検討した。

4. 研究成果

マイクロサテライト解析では肝細胞キメリズムは免疫寛容群で 7/13 (54%)、慢性拒絶群では 5/11 (45%) であり、グラフトの状態とは無関係と考えられた。異性間移植例における XY-FISH 法の検討では、グラフトの肝細胞の約 3% はレシピエント由来であり、両群で差は認められなかった。

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)

Chen F, Miyagawa-Hayashino A, Yurugi K, Chibana N, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Takakura S, Bando T, Date H. Redo Living-Donor Lobar Lung Transplantation for Bronchiolitis Obliterans Associated with Antibody-Mediated Rejection. *Transpl Int* 27:e8-e12, 2014, doi: 10.1111/tri.12224 査読有  
Salah A, Fujimoto M, Yoshizawa A, Yurugi K, Miyagawa-Hayashino A, Sumiyoshi S, Minamiguchi S, Uemoto S,

Maekawa T, Haga H.

Application of complement component 4d immunohistochemistry to ABO-compatible and ABO-incompatible liver transplantation. *Liver Transpl* 20:200-209, 2014, doi:

10.1002/lt.23789 査読有

Ueda Y, Kaido T, Ito T, Ogawa K, Yoshizawa A, Fujimoto Y, Mori A, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Marusawa H, Chiba T, Uemoto S.

Chronic Rejection Associated with Antiviral Therapy for Recurrent Hepatitis C after Living-Donor Liver Transplantation. *Transplantation* 97:344-350, 2014 doi:

10.1097/01.TP.0000435702.61642.0a. 査読有

Aini W, Miyagawa-Hayashino A, Ozeki M, Tsuruyama T, Tamaki K, Uemoto S, Haga H. Frequent hepatocyte chimerism in long-term human liver allografts independent of graft outcome. *Transpl Immunol* 28:100-105, 2013, doi:

10.1016/j.trim.2012.12.002 査読有

Yoshizawa A, Egawa H, Yurugi K, Hishida R, Tsuji H, Ashihara E, Miyagawa-Hayashino A, Teramukai S, Maekawa T, Haga H, Uemoto S.

Significance of semiquantitative assessment of preformed donor-specific antibody using luminex single bead assay in living related liver transplantation. *Clin Dev Immunol* 2013:972705, 2013, doi: 10.1155/2013/972705 査読有

Ueda Y, Yoshizawa A, Ogura Y, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Chiba T, Uemoto S. Plasma cell hepatitis induced by the termination of antiviral therapy for recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation. *Hepatology* 2013, doi: 10.1111/hepr.12243 査読有

Ueda Y, Kaido T, Ogura Y, Ogawa K, Yoshizawa A, Hata K, Fujimoto Y, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Marusawa H, Teramukai S, Uemoto S, Chiba T.

Pretransplant serum hepatitis C virus RNA levels predict response to antiviral treatment after living donor liver transplantation. *PLoS One* 8:e58380, 2013, doi:10.1371/annotation/1601274b-def0

-4970-8e61-62e657c2d1ae 査読有

Miyagawa-Hayashino A, Yoshizawa A, Uchida Y, Egawa H, Yurugi K, Masuda S, Minamiguchi S, Maekawa T, Uemoto S, Haga H. Progressive graft fibrosis and donor-specific HLA antibodies in

pediatric late liver allografts. Liver Transpl 18; 1333-1342, 2012, doi: 10.1002/lt.23534 査読有

Aini W, Miyagawa-Hayashino A, Tsuruyama T, Hashimoto S, Sumiyoshi S, Ozeki M, Tamaki K, Uemoto S, Haga H. Telomere shortening and karyotypic alterations in hepatocytes in long-term transplanted human liver allografts. Transpl Int 25; 956-966, 2012, doi: 10.1111/j.1432-2277.2012.01523.x 査読有

Murakawa Y, Miyagawa-Hayashino A, Ogura Y, Egawa H, Okamoto S, Soejima Y, Kurosawa M, Sumiyoshi S, Uemoto S, Haga H. Liver transplantation for severe hepatitis in patients with common variable immunodeficiency. Pediatr Transplant 16; E210-216, 2012, doi: 10.1111/j.1399-3046.2011.01545.x 査読有

Egawa H, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Teramukai S, Yoshizawa A, Ogawa K, Ogura Y, Okamoto S, Kaido T, Uemoto S. Non-inflammatory centrilobular sinusoidal fibrosis in pediatric liver transplant recipients under tacrolimus withdrawal. Hepatol Res 42; 895-903, 2012, doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.01003.x 査読有

宮川文[林野], 羽賀 博典, 上本 伸二 Laboratory Practice 移植医療 移植医療と検査 肝移植後の合併症の病理検査と技術 (0301-2611)40 巻 3 号 Page202-205(2012.03)

論文種類：解説、査読無

[学会発表](計16件)

Takeuchi Y, Miyagawa-Hayashino A, Chen F, Date H, Haga H. Pleuroparenchymal Fibroelastosis and Non-specific Interstitial Pneumonia as Frequent Pulmonary Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The 103<sup>rd</sup> Annual Meeting for United States & Canadian Academy of Pathology, March 1 to 7, 2014, San Diego, CA, USA, 2014.3.1-3.7

Yoshizawa A, Yurugi K, Hishida R, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Maekawa T, and Uemoto S. The Impact of Donor Specific Antibodies on the Long-Term Liver Allograft after Pediatric Living Donor Liver Transplantation. 24th International Congress of the Transplantation Society

July 15-19, 2012 Berlin, Germany

田中 宏和, 久保田 豊成, 秦 浩一郎,

影山 詔一, 平尾 浩史, 岡村 裕輔, 宮川文, 和田 道彦, 羽賀 博典, 上本 伸二 肝移植後 TMA における補体系の関与に関する検討。補体シンポジウム講演集 (2185-8470)50 巻 Page54(2013.07) 論文種類：会議録

竹内 康英, 宮川文, 住吉 真治, 陳 豊史, 伊達 洋至, 羽賀 博典

造血幹細胞移植後の肺慢性移植片対宿主病 17 例に対する病理組織学的検討

日本病理学会会誌(0300-9181)102 巻 1 号 Page310(2013.04) 論文種類：会議録

金 秀基, 上田 佳秀, 海道 利実, 小倉 靖弘, 小川 晃平, 吉澤 淳, 秦 浩一郎, 藤本 康弘, 伊藤 孝司, 丸澤 宏之, 宮川文, 羽賀 博典, 千葉 勉, 上本 伸二 肝移植後 C 型肝炎治療の現状と問題点 移植 (0578-7947)47 巻 4-5 Page341-342(2012.09) 論文種類：会議録

平田 義弘, 吉澤 淳, 宮川文, 吉利 幸江, 藤本 康弘, 小川 晃平, 小倉 康弘, 岡本 晋也, 羽賀 博典, 上本 伸二 免疫抑制剤完全離脱症例の経過の検討

移植 (0578-7947)47 巻 総会臨時 Page219(2012.09) 論文種類：会議録

金城 昌克, 吉澤 淳, 宮川文, 吾拉木 江 艾尼, 岡本 晋弥, 羽賀 博典, 上本 伸二 劇症肝炎に対し生体肝移植後、GVHD を発症した症例 移植 (0578-7947)47 巻 総会臨時 Page217(2012.09) 論文種類：会議録/症例報告

吉澤 淳, 宮川文, 岡本 晋也, 海道 利実, 羽賀 博典, 上本 伸二 長期経過小児肝移植患者における晩期拒絶反応と抗ドナー HLA 抗体の検討 移植 (0578-7947)47 巻 総会臨時 Page206(2012.09) 論文種類：会議録

羽賀 博典, サーレハ・アディーブ, 吉澤 淳, 宮川文, 藤本 正数, 上本 伸二 臓器移植における抗 HLA 抗体の意義 肝移植における C4d 免疫染色の臨床病理学的意義 移植(0578-7947)47 巻総会臨時 Page155(2012.09) 論文種類：会議録

羽賀 博典, 福田 裕紀, 藤本 正数, サーレハ・アディーブ, 住吉 真治, 南口 早智子, 宮川文 グラフト肝生検における C4d 免疫染色と術後抗ドナー抗体との比較検討 日本病理学会会誌 (0300-9181)101 巻 1 号 Page364 (2012.03) 論文種類：会議録

鶴山 竜昭, 宮川文, 南口 早智子, 三上 芳喜, 上本 伸二, 羽賀 博典 移植小腸の粘膜免疫と組織診断日本病理学会会誌 (0300-9181)101 巻 1 号 Page258(2012.03) 論文種類：会議録

吉澤 淳, 江川 裕人, 菱田 理恵, 万木 紀美子, 芦原 英司, 宮川文, 飯田 拓, 八木 真太郎, 秦 浩一郎, 小倉 靖弘,

森 章, 海道 利実, 前川 平, 羽賀 博典,  
上本 信二 生体肝移植における術前リンパ球クロスマッチテストと抗ドナーHLA抗体検出の意義 移植(0578-7947)46巻 6号 Page674-675(2011.12) 論文種類: 会議録

上田 佳秀(京都大学 消化器内科), 海道利実, 小倉 靖弘, 森 章, 小川 晃平, 吉澤 淳, 秦 浩一郎, 八木 真太郎, 宮川 文, 羽賀 博典, 丸澤 宏之, 千葉 勉, 上本 伸二 HCV 陽性レシピエントに対する肝移植後の長期予後 移植(0578-7947)46 巻 6 号 Page659-660(2011.12) 論文種類: 会議録

吉澤 淳(京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科), 江川 裕人, 菱田 理恵, 万木 紀美子, 宮川 文, 前川 平, 羽賀 博典, 上本 信二 抗体関連型拒絶反応の診断に苦慮した細胞障害性クロスマッチ陰性の生体肝移植後の1例

MHC: Major Histocompatibility Complex (2186-9995)18 巻 2 号 Page138 (2011.08) 論文種類: 会議録/症例報告

吉澤 淳(京都大学 肝胆膵・移植外科), 江川 裕人, 菱田 理恵, 万木 紀美子, 芦原 英司, 宮川 文, 飯田 拓, 八木 真太郎, 秦 浩一郎, 小倉 靖弘, 森 章, 海道 利実, 羽賀 博典, 前川 平, 上本 伸二 生体肝移植における術前抗ドナーHLA抗体陽性の意義 日本外科学会雑誌(0301-4894)112 巻 臨増 1-2 Page354(2011.05) 論文種類: 会議録

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮川 文 (MIYAGAWA AYA)

研究者番号: 90432385

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: