

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 9 月 16 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592013

研究課題名(和文) 小児生体肝移植後グラフト肝加齢変化のテロメア長とテロメラーゼ活性による解明

研究課題名(英文) Elucidation of the graft senescence after pediatric living donor liver transplantatin by telomere length and telomerase using Q-FISH method.

研究代表者

川野 陽一 (Kawano, Youichi)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：50366671

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：多くの症例でグラフト肝とドナー肝のテロメア長を指標とした加齢変化は、同等であった。また、肝移植後合併症(血管、胆管、急性拒絶反応など免疫学的合併症を含む)が高度であり、術後長期経過後も血液学的肝機能安定のために多数の免疫抑制剤を要した症例では、グラフト肝のテロメア長は、ドナー肝に比し、有意に短縮する可能性があった。逆に合併症が少なく、免疫抑制剤の離脱が可能、あるいはほぼ可能である症例では、グラフト肝のテロメア長がドナー肝よりも短縮スピードが低下する可能性が示唆された。ドナー年齢が、肝移植後グラフトテロメア長の短縮スピードに影響を及ぼし、35歳以上ではテロメア長短縮が加速する可能性があった。

研究成果の概要(英文)：This pilot study indicates that donor age is a crucial factor affecting telomere length sustainability in hepatocytes after pediatric LDLT, and that the telomeres in grafted livers may be elongated somewhat longer when the grafts are immunologically well controlled.

研究分野：肝胆膵移植外科

キーワード：肝細胞テロメア長 小児生体肝移植 ドナー肝 グラフト肝 加齢変化

## 1. 研究開始当初の背景

生体肝移植術は種々肝疾患における一般的治療として普及してきており、良好な短期成績を得ることは証明されているが、長期成績はいまだ不明な点が多い。すなわち、“グラフト(移植)臓器の寿命”の把握は移植医療の命題と言えるが、その客観的指標はいまだ存在せず、移植された臓器が長期的にいつまで十分な機能を果たすのかは、今だ不明である。ドナーからレシピエントへ移植された後からグラフト肝の加齢速度には変化が生じるものと考えられるが、現在まで、その変化を明らかにした報告はない。

一方、ヒト体細胞においてテロメア長は細胞分裂ごとに短縮し、6 kbp まで短縮すると細胞は分裂を停止し、細胞老化を迎えるため、テロメア長は老化の指標とされる。組織切片 FISH 法により、肝生検検体での組織切片にて正確なテロメア長の測定が可能となった。

グラフト臓器の寿命を客観的指標で把握すること、グラフト加齢変化およびそれに影響を与える因子の把握は、全臓器移植医療の命題であると言える。

## 2. 研究の目的

本研究(「小児生体肝移植後グラフト肝加齢変化のテロメア長とテロメラーゼ活性による解明」)は、小児肝移植後のグラフト肝よりプロトコル肝生検で得られた肝細胞のテロメア長を組織 Q-FISH 法、テロメラーゼ活性をリアルタイム PCR 法により測定し、定量的指標によりグラフト肝寿命を把握すると共に種々術後状態が及ぼすグラフト肝寿命への影響を解明することが目的である。

## 3. 研究の方法

本研究は、自治医科大学移植外科で施行された小児生体肝移植後グラフト肝において、移植後経過良好群(免疫抑制剤離脱予備群も含む)、急性拒絶反応群、胆管合併症群、血管合併症群、免疫関連肝障害群の各群で、肝移植後のプロトコル肝生検(移植時、その後1年ごと)で得られた標本を用い、東京都健康長寿医療センター研究所老年病理学研究室で、テロメア長を組織 Q-FISH 法により、テロメラーゼ活性の定量をリアルタイム PCR 法により経時的に測定することで、グラフト肝の加齢速度を明らかにして、グラフト寿命を予測可能とし、各種合併症を含め小児生体肝移植後状態が与えるグラフト肝加齢への影響の把握を可能とする

ものとなる。

## 4. 研究成果

本研究により、多くの症例でグラフト肝とドナー肝のテロメア長を指標とした加齢変化は、同等であったことが証明された。また、肝移植後合併症(血管、胆管、急性拒絶反応など免疫学的合併症を含む)が高度であり、術後長期経過後も血液学的肝機能安定のために多数の免疫抑制剤を余儀なくされた症例では、グラフト肝のテロメア長は、ドナー肝に比し、有意に短縮する可能性があることも解明した。逆に合併症が少なく、免疫抑制剤の離脱が可能となった、あるいはほぼ可能である症例では、グラフト肝のテロメア長がドナー肝よりも短縮スピードが低下する可能性が示唆された。また、ドナー年齢が、肝移植後グラフトテロメア長の短縮スピードに影響を及ぼし、35歳以上ではテロメア長短縮が加速する可能性があることも証明した。

本研究に付随し、多くの知見も得ることが可能となった。胆道閉鎖症患者の肝細胞テロメア長が正常に比べ有意に短縮すること、ドナー年齢が、肝移植後のトランスに影響を及ぼす可能性があること、ドナーとレシピエントの性差が移植後急性拒絶反応の頻度に影響を及ぼし、父親から娘への生体肝移植においてその頻度が高くなることなどを証明し、それぞれ、英語論文、学会などに発表した。

## 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 7件)

- 1) Sanada.Y, Kawano Y, et al. Donor age and operational tolerance in living donor liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 19, P244-245, 2015
- 2) Kawano Y, Sanada.Y, et al. COMPLEMENTARY INDICATORS FOR DIAGNOSIS OF HEPATIC VEIN STENOSIS AFTER PEDIATRIC LIVING DONOR LIVER TRANSPLANTATION. *Transplantation Proceedings.* S0041, P234-237, 2016
- 3) Sanada.Y, Kawano Y, et al.

- Examinations of ascites from prophylactic drains can predict intra-abdominal infections after living donor liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 19, 595-604, 2015
- 4) Sanada.Y, Kawano.Y, et al. Donor age and operational tolerance in living donor liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 19, 244-5, 2015
- 5) Kawano.Y, Sanada.Y, et al. Q-FISH measurement of hepatocyte telomere lengths in donor liver and graft after pediatric living-donor liver transplantation: donor age affects telomere length sustainability. *PLoS One.* 9(4), doi: 10.1371/journal.pone.0093749, 2014.
- 6) Sanada.Y, Kawano.Y, et al. Maternal grafts protect daughter recipients from acute cellular rejection after pediatric living donor liver transplantation for biliary atresia. *Transpl Int.* 27, 383-90, 2014
- 7) Sanada.Y, Kawano.Y, et al. Hepatocellular telomere length in biliary atresia measured by Q-FISH. *World J Surg.* 36, 908-16, 2012

〔学会発表〕(計 4件)

- 1) Kawano.Y, Sanada.Y, et al. COMPLEMENTARY INDICATORS FOR DIAGNOSIS OF HEPATIC VEIN STENOSIS AFTER PEDIATRIC LIVING DONOR LIVER TRANSPLANTATION. 14th Congress of the Asian Society of Transplantation (2015)
- 2) Kawano.Y, Sanada.Y, et al. Q-FISH measurement of hepatocyte telomere lengths in donor liver and graft after pediatric livingdonor liver transplantation: donor age affects telomere length sustainability. 14th Congress of the Asian Society of Transplantation (2015)

3) 真田幸弘、川野陽一、他. 胆道閉鎖症肝のテロメア長と細胞老化関連-galactosidaseの解析. 日本病理学会 (2012)

4) 真田幸弘、川野陽一、他. 胆道閉鎖症の肝組織における細胞老化関連マーカーの解析. 日本小児外科学会 (2014)

〔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 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

東京都長寿医療センター  
 高齢者癌研究グループホームページ  
<http://ttaggg-rtgp.org/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

川野陽一 (Kawano, Youichi)  
 日本医科大学医学部・助教

研究者番号：503366671

### (2)研究分担者

真田幸弘 (Sanada, Yukihiro)  
 自治医科大学医学部・助教

研究者番号：60406113

(3)連携研究者

田久保海誉 (Takubo, Kaiyo)  
東京都長寿医療センター・東京都健康長  
寿医療センター研究所・研究部長

研究者番号：00154956