

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16525

研究課題名(和文) 補体第3因子阻害による凝固・補体系抑制を介した肝細胞移植後早期炎症反応の制御

研究課題名(英文) Control of instant blood mediated inflammatory reaction by C3 inhibitor

研究代表者

中西 渉 (Nakanishi, Wataru)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50636024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞移植では成績不良の原因の一つである移植後早期炎症反応が問題となっているが、本研究はこの反応を解析・検討し移植成績の向上を企図した。経門脈的肝細胞移植は、門脈血流と直接肝細胞が接し、補体系のカスケード反応が惹起され、移植細胞の大部分が破壊される。まず補体系第3因子および第5a因子を抑制したが、有意な向上は認めなかった。これらの得られた知見から、肝細胞移植後急性期では補体系が活性化すると凝固系も活性化することが知られており、補体系のみならず凝固系の反応を制御が重要であることが判明した。今後凝固系の反応を阻害する戦略でアプローチすることが、有用であると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝不全に対する肝細胞移植は生着率が問題となっているが、その大きな要因は移植後早期に惹起される補体系・凝固系カスケードによるため、これを制御することが肝不全に対する治療として確立する上で大きな目標である。本研究の結果から、凝固系がより強固に関与していることが判明したため、今後の生着率向上のための戦略としては凝固系を制御する必要がある。実際の臨床では凝固機能を制御する薬剤は多種多様な薬剤が使用されており、実臨床に直接還元できる知見である。また本研究で構築したラットの肝細胞移植モデルは薬剤を安全に門脈内に持続的に投与することが可能であり、今後同様の検討を行う上で有用になる。

研究成果の概要(英文)：In hepatocyte transplantation, the instant blood mediated inflammatory reaction, which is one of the causes of poor results, has become a problem. In this study, we analyzed the reaction and attempted to improve the transplantation results. In portal vein hepatocyte transplantation, transplanted hepatocytes are directly exposed in portal blood flow, causing a cascade reaction of the complement system. Then, most of the transplanted cells are destroyed. First, the complement system factors 3 and 5a were suppressed, but no significant improvement was observed in the acute stage of hepatocyte transplantation. In the acute stage of hepatocyte transplantation, the coagulation system is thought to be more important to control the instant blood mediated inflammatory reaction which is known to activate coagulation system.

研究分野：移植医療

キーワード：肝細胞移植 移植後早期炎症反応

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肝不全に対する根治的な治療として、肝臓移植が確立している。人体においてさまざまな物質の合成、代謝、解毒を行う肝臓が肝不全をきたすことで機能しなくなった際に、肝臓を入れ替えることで致命的な肝不全状態を脱するための根治療法である。本邦では2017年末までの総移植数は9,242例であり、ドナー別にみると死体移植が447(脳死移植444、心停止移植3)、生体移植が8,795件であった。国内で脳死肝移植を受けた375名のうち累積生存率は1年92%、3年90%、5年88%、10年82%、15年76%である。一方、生体肝移植後の累積生存率は1年86%、3年82%、5年79%、10年74%、15年69%に留まる。2017年集計:日本移植学会2018臓器移植ファクトブックより)約10%の症例で移植後1年で死亡している。この要因として肝移植手術は長時間手術、凝固障害による出血、移植片機能不全、心血管系障害、感染症、術後胆管炎、血栓症などのリスクが高い高侵襲手術であることが挙げられる。もう一つ問題点として絶対的なドナー不足がある。臓器移植ネットワークの報告によれば、2016年末までの肝臓移植希望登録者累計(肝腎、肝小腸同時移植含む)は2581名であり、2016年末現在での転帰調査によると、4待機患者の41%が死亡しているのが現状である。現状ではドナー不足のため肝移植を受けたくても受けられない。

肝細胞移植は肝臓から肝細胞を分離し、門脈や脾臓に移植する治療法である。代謝性疾患に対する根治治療として行われており、世界では100例以上の報告がされている(Gramignoli R., et al. 2015 Eur Surg Res)。利点としては低侵襲であることまた、肝移植で不適とされるドナー肝臓でも利用できる。課題としては生着不良であることがあり、代謝性肝疾患に対して行われた33例で最終的に19例で肝移植を要したとの報告がある(Hansel MC, et al. 2014. Current protocols in toxicology)。

### 2. 研究の目的

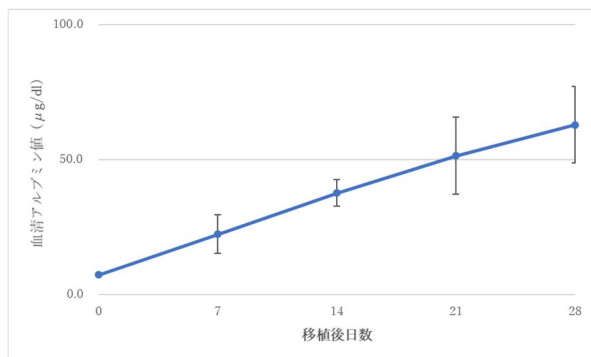
細胞移植をラットモデルで構築し、in vivoでのIBMIRを評価し、IBMIRにおける補体系の関与を明らかにし、補体系を制御することで生着率の上昇を目指す。

### 3. 研究の方法

肝細胞移植のモデルは無アルブミンラット(F344 non albumin rat)をレシピエントとし、ドナーはsyngeneicのF344を用いて構築し、アルブミンを測定することによって肝細胞の生着を評価した。ラットの肝細胞を分離し、精製、全身麻酔下のレシピエントの門脈に穿刺し移植した。補体系の制御には補体系のカスケードにおいて重要なステップであるC3に着目した。臨床応用を見え据えて補体阻害剤であるcompstatinを用いて実験を行った。また脾臓移植においてはIBMIRの制御に有用とされるC5a阻害剤(C5a1P)も用いて補体系の制御を行うこととした。

### 4. 研究成果

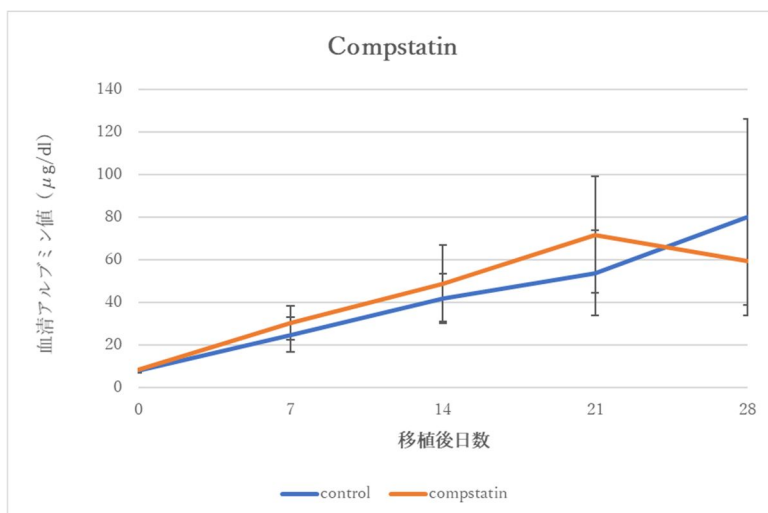
(1)ラットの肝細胞移植モデルの構築を行い、無アルブミンラットを用いた移植後一月観察可能であることを確認した。下図のようにアルブミン値が移植後経時的に増加し、一ヶ月以上生存するモデルであることを確認した。



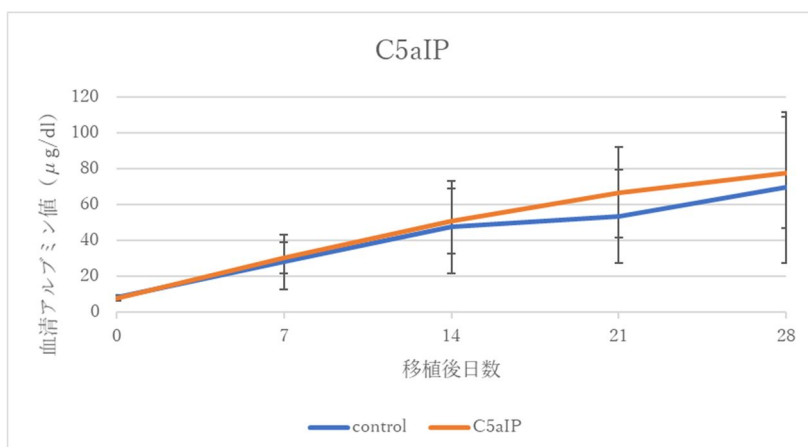
続いて薬剤を門脈内に投与するモデルを構築した。門脈へは肝細胞移植を行うため、脾静脈への薬剤投与経路を確保したモデルを構築し、肝細胞移植と薬剤が確実にかつ持続的に投与し、かつ移植成績に影響を及ぼさないことを確認した。

(2)このモデルを用いてC3の阻害剤として使用されているcompstatinを用いた移植実験

を行った。その結果 compstatin 投与群では移植後 21 日までは有効である傾向を認めたが最終的な生着率に有意な差を認めなかった。この結果から C3 の制御では不十分であることが判明した。



(3) C5a inhibitory peptide (C5aIP) により C5a を制御する実験を行い、こちらも control 群との間に有意差を認めなかった。



以上の知見から肝細胞移植後の IBMIR においては臍島移植における IBMIR とはやや異なり、補体系の関与は弱く、凝固系活性化の関与がメインであると考えられた。IBMIR 制御の戦略としては補体系を制御するだけでは不十分であることが明らかとなったため、同じく門脈内に移植することが一般的な様な臍島移植では報告されている、凝固系と補体系双方を抑えることが必要になることが判明した。凝固系の制御薬剤は DIC の治療目的として臨床使用されている薬剤が多数あるため、これを検討することは肝細胞移植の成績を向上させるために有用かつ現実的な選択肢となると考えられ、今後の検証課題であると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------