

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591471
 研究課題名（和文）生体肝移植過少グラフト克服に対する先進的探究：自己生体幹細胞由来細胞移植の応用
 研究課題名（英文）The pilot investigation for small-for-size graft in living donor liver transplantation: application of peripheral blood stem cell transplantation.
 研究代表者
 加藤 広行 (KATO HIROYUKI)
 群馬大学・医学部・講師
 研究者番号：70224532

研究成果の概要：過少グラフトや脂肪肝グラフトによる肝移植時の肝細胞不足を補うべく、ラットの肝移植モデル・脂肪肝モデルでの検討を行った。ラット骨髄幹細胞を分離し、肝特異細胞への分化誘導を試みたが、現段階では肝細胞への分化誘導を確認できなかった。肝血管遮断モデルでは脂肪肝ラットを肝動脈・門脈同時再灌流群、肝動脈あるいは門脈をそれぞれ先行して再灌流する群の3群で比較を行ったところ、肝動脈先行再灌流群で肝機能の有意な改善を認めた。また、多価不飽和脂肪酸を摂取した場合に脂肪肝ラットにおける肝機能の改善を認めた。これらの結果より肝移植時において血行再建の工夫や栄養療法の併用により更なる肝細胞不足や肝機能の改善法究明へとつながった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：生体肝移植、過少グラフト、脂肪肝グラフト、骨髄幹細胞移植、血行再建、多価不飽和脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

成人間生体肝移植における移植臓器の過少グラフト・脂肪肝グラフトは、術後の遷延性機能的胆汁鬱滞および難治性腹水を引き起こす。移植肝の適応拡大のため、現在は過少グラフト・脂肪肝グラフトを用いていかに術後の肝機能を保つか改善すべく研究が行わ

れている。

2. 研究の目的

前述した術後の遷延性機能的胆汁鬱滞および難治性腹水を克服するためにラット肝切除モデル・部分肝移植モデル・脂肪肝モデルにおける絶対的機能的肝細胞不足を補助すべく、骨髄幹細胞から誘導した肝特異細胞移

植や血行再建法の工夫、多価不飽和脂肪酸を用いて、過少グラフトや脂肪肝グラフトによる障害を軽減させるための研究を行った。

3. 研究の方法

ラットより骨髄細胞を採取し、CD34 といった幹細胞特異的なモノクローナル抗体を用いて骨髄幹細胞を標識した。これに基づき、cell sorterによる骨髄幹細胞の分離を行った。マウス幹細胞にActivin AとBMP4 を用いると、肝特異細胞へ分化することが報告されており (Nat Biotechnol 2007; 24: 1402-11)、この方法により分離したラット骨髄幹細胞が肝特異細胞へ分化誘導し、ラット肝移植モデル・肝切除モデルにおける絶対的肝細胞不足を補えるかどうか検討した。

また、ラット肝門部血管遮断モデルを用いて、血行再建の順序によって、肝機能やその他の因子がどのように変化するか解析し、より肝機能・肝細胞不足を補うべく肝移植時の血行再建の改善点を検討した。

ラット脂肪肝モデルにおいて多価不飽和脂肪酸が肝機能や脂肪肝に対してどのような影響を与えるか検討した。

4. 研究成果

(ラット成体幹細胞の分離培養と肝細胞分離法の確立)

ラットより骨髄細胞を採取し、CD34 といった幹細胞特異的なモノクローナル抗体を用いて骨髄幹細胞を標識した。これに基づき、cell sorterによる骨髄幹細胞の分離を行った (業者委託)。マウス幹細胞にActivin AとBMP4 を用いると、肝特異細胞へ分化することが報告されており (Nat Biotechnol 2007; 24: 1402-11)、この方法により分離したラット骨髄幹細胞が肝特異細胞へ分化誘導されるか検討を行ったが、ラットの骨髄幹細胞では肝細胞への分化誘導を確認できず、新たな方法などを研究中である。

(ラット脂肪肝モデルでの研究)

骨髄幹細胞から肝細胞への誘導実験が確立していないため、肝切除モデル・肝門部血管遮断モデルでの肝虚血再灌流について実験中。肝血管遮断モデルでは脂肪肝ラットを肝動脈・門脈同時再灌流群、肝動脈あるいは門脈をそれぞれ先行して再灌流する群の3群で

比較を行ったところ、肝動脈先行再灌流群でASTとALTの有意な改善を認めた。また、 ω 3多価不飽和脂肪酸を用いて、脂肪肝における肝虚血再灌流後や肝切除後でのT-bil・AST・ALTが改善された。

(ラット部分肝移植モデルの確立)

ラット30%部分肝移植モデルを当教室で確立すべく実験中である。

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5件)

- ① Kato H., Kimura H, Nakajima M, Sakai M, Sano A, Tanaka N, Inose T, Faried A, Saito K, Ieta K, Sohda M, Fukai Y, Miyazaki T, Masuda N, Fukuchi M, Ojima H, Tsukada K, Oriuchi N, Endo K, Kuwano H. The additional value of integrated PET/CT over PET in initial lymph node staging of esophageal cancer. Oncol Rep. Oct;20(4):857-62. 2008. 査読有
- ② Kato H., Fukuchi M., Miyazaki T., Nakajima M., Tanaka N., Inose T., Kimura H., Faried A., Saito K., Sohda M., Fukai Y., Masuda N., Manda R., Ojima H., Tsukada K., Kuwano H.: Surgical Treatment for Esophageal Cancer. Dig. Surg. Vol.24, P. 88-95, 2007. 査読有
- ③ Kato H., Miyazaki T., Sakai M., Sano A., Tanaka N., Kimura H., Inose T., Faried A., Saito K., Sohda M., Nakajima M., Fukai Y., Masuda N., Fukuchi M., Manda R., Ojima sukada K., Kuwano H.: Videofluoroscopic Evaluation in Oropharyngeal Swallowing after Radical Esophagectomy with Lymphadenectomy for Esophageal Cancer. Anticancer Research, 27:4249-4254. 2007. 査読有
- ④ Kato H., Fukuchi M., Miyazaki T., Manda R., Faried A., Takita J., Nakajima M., Dohda M., Fukai Y., Masuda N., Tsukada K., Kuwano H.: Endoscopic Clips Prevent Self-expandable Metallic Stent

- ⑤ Kato H, Fukuchi M, Miyazaki T, Nakajima M, Tanaka N, Inose T, Kimura H, Faried A, Saito K, Sohda M, Fukai Y, Masuda N, Manda R, Ojima H, Tsukada K, Oriuchi N, Endo K, Nonaka T, Shioya M, Ishikawa H, Sakurai H, Nakano T, Kuwano H. Prediction of response to definitive chemoradiotherapy in esophageal cancer using positron emission tomography. Anticancer Res. 2007 Jul-Aug;27(4C):2627-33. 2007. 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

- ① Kato H, Inose T, Sakai M, Sano ,Tanaka N, Sohda M, Nakajima M, Fukai Y, Miyazaki T, Masuda N, Fukuchi M, Kuwano H:WP1-3 Laparoscopic heller myotomy plus dor fundoplication for achalasia. 11th World Congress of Endoscopic Surgery September 2-5, 2008 Yokohama
- ② 加藤広行、猪瀬崇徳、酒井 真、佐野彰彦、田中成岳、宗田 真、中島政信、深井康幸、宮崎達也、増田典弘、福地 稔、桑野博行: ポスターセッション 1 食道 1: 良性(1)「食道アカラシアに対する腹腔鏡下手術症例の検討」。第 21 回日本内視鏡外科学会総会 2008 年 9 月 2 日(火)~5 日(金) パシフィコ横浜 横浜
- ③ 加藤広行、中島政信、家田敬輔、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、宗田 真、宮崎達也、福地 稔、村田真澄、野中哲生、桜井英幸、中野隆史、桑野博行: シンポジウム 10 「高度進行食道癌に対する術前療法と PET 検査による効果判定の意義」。第 62 回日本食道学会学術集会 平成 20 年 6 月 21 日、22 日 都市センターホテル, 2008. 東京
- ④ 加藤広行、中島政信、家田敬輔、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、宗田 真、宮崎達也、福地 稔、村田真澄、野中哲生、桜井英幸、中野隆史、桑野博行: シンポジウム 10 「Neoadjuvant therapy の功罪」 高度進行食道癌に対する術前療法と PET 検査による効果判定の意義: 第 62 回日本食道学会学術集会 2008 年 6 月 21 日、22 日 都市センターホテル 東京
- ⑤ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、家田敬輔、宗田 真、中島政信、深井康幸、宮崎達也、増田典弘、福地 稔、塚田勝彦、桑野博行: パネルディスカッション(4)「食道癌根治治療における化学放射線療法と食道切除術の位置づけ」食道癌に対する手術療法と化学放射線療法の位置づけ, 第 108 回 日本外科学会定期学術集会 2008 年 5 月 15 日(木)~17 日 長崎
- ⑥ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、斎藤加奈、家田敬輔、宗田 真、中島政信、深井康幸、宮崎達也、増田典弘、福地 稔、塚田勝彦、桑野博行: 一般演題「食道癌に対する再発形式とその治療戦略について」。第 4 回 日本消化管学会総会学術集会 2008 年 2 月 7 日、8 日 グランキューブ大阪(大阪国際会議場) 大阪
- ⑦ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、斎藤加奈、家田敬輔、宗田 真、中島政信、深井康幸、宮崎達也、増田典弘、福地 稔、塚田勝彦、桑野博行 食道癌に対する再発形式とその治療戦略について, 第 4 回日本消化管学会総会学術集会 2008 年 2 月 7-8 日 大阪
- ⑧ 加藤広行、宮崎達也、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、平井英子、酒井 真、佐野彰彦、斎藤加奈、家田敬輔、宗田 真、中島政信、深井康幸、増田典弘、萬田緑平、福地 稔、尾島 仁、塚田勝彦、桑野博行 ワークショップ 2 「食道切除後の嚥下機能の評価」。第 59 回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会 2007 年 11 月 1 日(木)、2 日(金) 群馬県民会館 前橋市
- ⑨ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、家田敬輔、中島政信、宮崎達也、福地 稔、桑野博行: ワークショップ「再発食道癌に対する PET 検査の診断能とその治療について」。第 45 回 日本癌治療学会総会 2007 年 10 月 24 日~26 日 国立京都国際会館 京都市
- ⑩ 加藤広行、宮崎達也、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、平井英子、酒井 真、佐野彰彦、斎藤加奈、家田敬輔、宗田 真、中島政信、深井康幸、増田典弘、萬田緑平、福地 稔、尾嶋 仁、塚田勝彦、桑野博行: ワークショップ 2 「食道切除後の

嚥下機能の評価」. 第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 2007 年 7 月 18 日(水)、19 日(木)、20 日(金) 京王プラザホテル 東京

- ⑪ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、斎藤加奈、家田敬輔、中島政信、宮崎達也、福地 稔、桑野博行: 一般口演 食道癌 画像診断「食道癌診療におけるPET/CT検査の意義—特にPET検査およびCT検査と比較して」. 第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会 2007 年 7 月 18 日(水)、19 日(木)、20 日(金) 京王プラザホテル 東京
- ⑫ 加藤広行、中島政信、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、猪瀬崇徳、家田敬輔、宮崎達也、福地 稔、桑野博行: 口演 食道 診断「食道癌手術におけるリンパ節転移診断とその郭清術の意義」. 第 63 回日本消化器外科学会学術集会 2007 年 7 月 16 日～18 日 ロイトン札幌 札幌
- ⑬ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、斎藤加奈、家田敬輔、中島政信、桑野博行 再発食道癌に対するPET検査の有用性. 第 43 回群馬県核医学研究会 2007 年 6 月 30 日 前橋
- ⑭ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、酒井 真、佐野彰彦、斎藤加奈、宗田 真、中島政信、深井康幸、宮崎達也、増田典弘、萬田緑平、福地 稔、桑野博行: シンポジウム 4「再発食道癌 治療成績は向上したか」再発食道癌に対する早期診断とその治療戦略について. 第 61 回日本食道学会学術集会 2007 年 6 月 21 日(木)、22 日(金) パシフィコ横浜 横浜
- ⑮ 加藤広行、木村 仁、猪瀬崇徳、田中成岳、宗田 真、中島政信、宮崎達也、増田典弘、萬田緑平、福地 稔、塚田勝彦、桑野博行: デジタルポスターセッション「食道(診断)」消化器癌診療におけるPET検査の臨床的意義について—特に食道がん診療を中心に—. 第 107 回日本外科学会定期学術集会 平成 19 年 4 月 11 日～13 日 リーガロイヤルホテル大阪 大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 広行 (KATO HIROYUKI)
群馬大学・医学部・講師
研究者番号: 70224532

(2) 研究分担者

桑野 博行 (KUWANO HIROYUKI)
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 90186560

浅尾 高行 (ASAO TAKAYUKI)
群馬大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 40212469

鈴木 秀樹 (SUZUKI HIDEKI)
群馬大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 20322018